

FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

ANALISIS EXPERIMENTAL DE HETEROINJERTOS
DE VESICULA OPTICA EN EMBRIONES DE AVE

TESIS DOCTORAL

MANUEL RIAÑO GRANERO
MADRID 1.991



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS

MADRID

DON ANTONIO JAVIER PUERTA FONOLLA, CATEDRÁTICO DE ANATOMÍA
DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE DE MADRID

I N F O R M A: Que el trabajo titulado: "ANÁLISIS EXPERIMENTAL
DE HETEROINJERTOS DE VESÍCULA ÓPTICA EN EM--
BRIONES DE AVE" ha sido realizado por Don _
Manuel Riaño Granero, bajo mi dirección du--
rante los años 1983-1990, en los laborato---
rios de Embriología del Departamento de Cienci
as Morfológicas, reuniendo todos los requi-
sitos para ser presentado y defendido como -
Tesis Doctoral.

Madrid, 15 de abril de 1991



Ido.: Prof. Dr. A.J. Puerta
Catedrático de Anatomía.

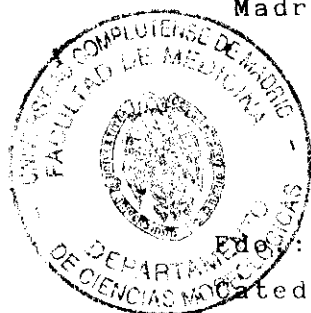


UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS
MADRID

DON ANTONIO JAVIER PUERTA FONOLLA, CATEDRATICO-DIRECTOR DEL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS DE LA FACULTAD DE MEDI-
CINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

I N F O R M A: Que el trabajo titulado: "ANALISIS EXPERIMENTAL
DE HETEROINJERTOS DE VESICULA OPTICA EN EMBRIO-
NES DE AVE " presentado por Don Manuel Riaño -
Granero reúne las condiciones para ser presentad
do y defendido como Tesis Doctoral.

Madrid, 15 de abril de 1991



Edo.: Prof. Dr. A.J. Puerta Fonollá
Catedrático-Director Departamento.

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

Prof. J. PUERTA FONOLLA

ANALISIS EXPERIMENTAL DE HETEROINJERTOS
DE VESICULA OPTICA EN EMBRIONES DE AVE

Trabajo de investigación para optar
al grado de Doctor.

Presentado por:
MANUEL RIAÑO GRANERO

A MIS PADRES

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. J. Puerta Fonollá, Director de esta Tesis Doctoral, son muchas las cosas que debo agradecerle; tanto la confianza que puso en mi cuando entré en la Cátedra I de Anatomía y su amistad personal, como la facilidad que tiene para enseñar e inculcar su entusiasmo por la Embriología y la Investigación.

Con el ejemplo del Prof. L. Fernandez-Vega Sanz, aprendí que la dedicación, la constancia y el trabajo diarios, son fundamentales para cualquier proyecto. Las facilidades que me ha dado, su comprensión y apoyo han contribuido a facilitar el trabajo de investigación.

Sólo con palabras no se puede expresar el agradecimiento y admiración que siento por José Alfonso; sus consejos, ayuda, dedicación y sobre todo su amistad inquebrantable a lo largo de los años, hace que esta Tesis Doctoral sea tan suya como mía.

A Carmen Benito y Alicia Cerro por la perfecta labor Histológica. Especialmente a Carmen, pues como profesional su presencia en el Laboratorio da la confianza del trabajo bien hecho y porque, a pesar de la dura prueba que atravesó, como persona siempre ha tenido una palabra de ánimo y el tiempo necesario para atendernos a todos; gracias.

A todo el personal de la Cátedra I de Anatomía por el grato ambiente de trabajo y en especial a los Dres. Angel Peña, Mercedes Martínez, Juan Carlos Prados, Julia Pérez, Rosario Benítez y su esposo Miguel Amorós, Milagros del Rio, Fermín Viejo y Concepción Martínez.

A mis compañeros del Hospital General de Asturias, José Alfonso, Manuel Franco, Begoña Baamonde, M^a Angeles Santiago, Joaquín Castro, Javier Nicieza, Manuel Rodríguez, Tomás Parra, Beatriz Cabo, Ana García y Juan Carlos Gómez, por realizar el trabajo asistencial mientras realizaba la Tesis.

Por último quiero agradecer a M^a Antonia Martínez Vieira, no sólo su labor mecanográfica, sino de forma muy especial la infinita paciencia.

INDICE

INTRODUCCION

1. Desarrollo del Globo Ocular de las Aves	
1.1. Organogénesis Ocular	2
1.2. Vesícula Óptica (Retina y Epitelio Pigmentado) ...	4
1.3. Cuerpo Vítreo	18
1.4. Cristalino	21
1.5. Córnea y Cámara Anterior	33
1.6. Coroides y Esclera	41
1.7. Iris y Cuerpo Ciliar	45
2. Embrión de Codorniz	49
3. Métodos de Embriología Experimental	
3.1. Cultivos y Cuerpos Extraños	57
3.2. Transplantes	59
3.3. Injertos	63
4. Justificación o Hipótesis de Trabajo	72

<u>MATERIAL Y METODOS</u>	73
---------------------------------	----

RESULTADOS

1. Controles de Codorniz	90
2. Injertos	243
2.1. Método A	244
2.2. Método B	318
2.3. Método C	334

DISCUSION

1. Embrión de Codorniz	391
2. Injertos. Generalidades	397
2.1. Método A	400
Córnea	400
Cristalino	410
Retina y Epitelio Pigmentado	419
Cuerpo Vítreo. Procesos Ciliares. Iris	439
2.2. Método B	441
Córnea	442
Cristalino	444
Retina y Epitelio Pigmentado	445
2.3. Método C	449
Embrión O-213	450
Cristalino	454
Retina y Epitelio Pigmentado	459
Embriones O-227 y O-230	464

<u>CONCLUSIONES</u>	466
---------------------------	-----

<u>BIBLIOGRAFIA</u>	472
---------------------------	-----

INTRODUCCION

1. DESARROLLO DEL GLOBO OCULAR DE LAS AVES.

1.1. ORGANOGENESIS OCULAR.

La primera publicación que conocemos sobre los territorios prospectivos oculares de las aves data de 1.817, donde PANDER afirma que en los embriones de pollo, las vesículas ópticas se forman a partir de unas evaginaciones laterales del tubo neural.

HUNT (1931) y STEIN (1933), obtienen esbozos oculares al injertar, en corioalantoides, tejido de la zona media adyacente al nódulo de Hensen y de la región más anterior de la prolongación cefálica, procedentes de un embrión de pollo en estadio de línea primitiva.

En las aves la placa precordal induce la formación de los esbozos oculares. Este dato es demostrado por ORTS LLORCA y NAVARRINA (1969), al obtener sinoftalmías tras extirpar parte de la placa precordal en embriones de pollo.

Para BALINSKI (1958), en los anfibios la placa precordal es también la responsable de regular el tamaño del globo ocular.

Actualmente se admite que en las aves, los territorios prospectivos oculares, se encuentran a ambos lados de la zona más anterior de la placa neural, detrás del pliegue neural transversal y muy cerca de la línea primitiva (BALINSKI, 1961).

Las vesículas ópticas surgen como dos evaginaciones en las partes laterales del futuro Prosencéfalo antes de que éste se divida en Telencéfalo y Diencéfalo, en el estadio de 5 pares de somitos (ALEXANDER, 1937) . Las evaginaciones crecen

lateralmente, transformandose en vesículas ópticas primarias (estadio 9 HH, 7 pares de somitos, 30 horas de incubación), (HAMILTON, 1952; HILFER, 1983).

Debido al crecimiento lateral de las vesículas ópticas primarias, éstas alcanzan el ectodermo suprayacente por lo que ambas estructuras se ponen en íntimo contacto separadas solamente por sus respectivas membranas basales, cuando el embrión tiene entre 10 y 18 pares de somitos (ALEXANDER, 1937; REDSLOB, 1935; WEISS y JACKSON, 1961).

A partir de ese momento, las vesículas ópticas primarias inducen, en el ectodermo superficial, la formación de la placoda cristaliniana (ALEXANDER, 1937; AMPRIMO, 1949; McKEEHAN, 1951).

Los pedículos ópticos situados en la base de las vesículas ópticas, con el crecimiento se alargan, disminuyen de calibre y se incurvan para quedar completamente formados en fases posteriores del desarrollo (estadio 12 HH, 16 pares de somitos). A través de los pedículos ópticos salen las fibras ópticas, formadas por los axones de las células ganglionares. Los primeros axones llegan al pedículo óptico entre el 3º y 5º día de incubación (ROGERS, 1957; KISTLER y LA VAIL, 1979).

Las vesículas ópticas primarias presentan en su interior un espacio hueco denominado ventrículo óptico, que se comunica con el ventrículo diencefálico a través de la luz de los pedículos ópticos.

1.2. VESICULA OPTICA. (RETINA Y EPITELIO PIGMENTADO)

La vesícula óptica primaria presenta una pared proximal y otra distal. Cuando la pared distal se pone en contacto con el ectodermo superficial, induce la formación de la placoda cristaliniana y después ambas estructuras comienzan a invaginarse. A partir de ese momento hablamos ya de vesícula óptica secundaria y vesícula cristaliniana.

La firme unión entre las membranas basales de la pared distal de la vesícula óptica primaria y de la placoda cristaliniana, parece ser esencial para la invaginación normal de ambas estructuras (LOPASHOV, 1963).

La muerte celular es uno de los mecanismos básicos del desarrollo. Aparece durante la invaginación, fusión y separación de los esbozos embrionarios (GLOCKSMANN, 1951).

Existen algunos experimentos sugerentes de que durante el desarrollo de los tejidos, las áreas necróticas son reguladas por factores intrínsecos y/o extrínsecos (HINCHLIFFE, 1981; BEAULATON y LOCKSHIN, 1982)

En mamíferos, SILVER y HUGHES (1973) observaron que durante la invaginación de la placoda cristaliniana y de la vesícula óptica primaria, la degeneración celular es máxima en la parte ventral de estos esbozos. Esto parece demostrar que para la morfogénesis normal del ojo, es necesaria una relación temporo-espacial entre las áreas necróticas de la retina y del cristalino.

En los embriones de pollo SCHOOK (1980a y b), encontró dos áreas de muerte celular durante la formación de la vesícula óptica secundaria y de la fisura óptica (estadios

13-18 HH). Ambas están localizadas en la parte ventral de la pared externa de la vesícula óptica y en la zona de inserción del pedículo óptico en el diencéfalo. Sin embargo, GARCIA-PORRERO y OJEDA (1979) y GARCIA-PORRERO y cols. (1984), describen otra zona de muerte celular que se localiza en la parte dorsal de la vesícula óptica secundaria; es decir, en el esbozo de la retina.

La invaginación de la vesícula óptica primaria comienza cuando el embrión de pollo tiene entre 20 y 21 pares de somitos (McKEEHAN, 1951; O'RAHILLY y MEYER, 1955; HILFER, 1983) o entre 21 y 25 (RABL, 1889) y finaliza cuando se oblitera la luz del ventrículo óptico por contacto de ambas capas de la vesícula óptica secundaria (30 pares de somitos, estadio 17 HH) (O'RAHILLY y MEYER, 1955).

En la región ventro-caudal de la vesícula óptica secundaria aparece una pequeña depresión que aumenta de tamaño con el crecimiento de la vesícula óptica. Esta depresión que conocemos como fisura óptica (fisura coroidea o hendidura coroidea), se extiende desde el borde de la vesícula óptica hasta el pedículo óptico y tiene una importancia fundamental, pues es el camino que van a seguir las fibras ópticas para introducirse en el pedículo óptico y alcanzar el sistema nervioso central (tectum óptico).

Debido a la presencia de la fisura óptica, la vesícula óptica secundaria crece al principio de forma irregular; pero una vez que se ha cerrado, la región ventral crece rápidamente y a partir de ese momento mantiene un desarrollo uniforme.

La vesícula óptica secundaria presenta dos capas, una externa (antigua pared proximal de la vesícula óptica primaria) que dará lugar al epitelio pigmentado y otra interna (antigua pared distal de la vesícula óptica primaria) de donde se van a diferenciar la retina neurosensorial (*pars optica retinae*) y la retina ciega (*pars caeca retinae*) que no guarda relación directa con la visión.

El desarrollo de la retina se inicia cuando la vesícula óptica primaria comienza a invaginarse (estadio 14 HH, 22 pares de somitos) para formar la vesícula óptica secundaria. En ese momento se observa un aumento del espesor de la capa interna de la vesícula óptica. El crecimiento, debido al incremento en el número de mitosis, comienza en la zona central y se extiende hacia la periferia. (WEYSSE Y BURGESS, 1906).

Todos los autores coinciden en afirmar que existen tres fases en el desarrollo histológico de la retina del embrión de pollo.

F1.- Fase exponencial: La curva de crecimiento celular es lineal.

F2.- Fase de diferenciación: Comienza la diferenciación celular específica.

F3.- Fase final: El número de células ya no varía.

Las discrepancias surgen cuando se delimita la duración de las fases. Para WEYSSE y BURGESS (1906), la F1 comprende entre el 2º y el 8º día; la F2 entre el 8º y 10º día y la F3 desde el 10º al final de la incubación (día 21); en cambio, para MORRIS y COWAN (1984), la F1 (3º y 5º día), la F2 (5º y

10º día) y la F3 (10º y 14º día).

La retina de las aves adultas está formada por una cadena de tres células: Fotorreceptores, células bipolares y células ganglionares (RAMON y CAJAL, 1888). Existen además otras células que regulan las sinapsis; así las células horizontales regulan las sinapsis entre los fotorreceptores y las bipolares y las células amacrinas lo hacen entre las bipolares y las ganglionares. Por último, existen las células de Müller que constituyen el elemento glial de la retina.

Normalmente hay dos tipos de fotorreceptores, los conos y los bastones. A pesar de que estas células son el primer eslabón de la cadena no son consideradas como neuronas, por lo tanto la primera neurona de la vía óptica son las células bipolares y la segunda las células ganglionares.

En los primeros estadios del desarrollo, la capa interna de la vesícula óptica presenta un solo tipo celular, los neuroblastos, a partir de ellos se van a diferenciar todas las células de la retina.

Las células ganglionares son las primeras que aparecen en el tercer día de incubación (18-19 HH) (RAMON y CAJAL, 1911; FUJITA y HORII, 1963; KAHN, 1973) y dos o tres días después completan su actividad mitótica. Algo más retrasadas que las células ganglionares, aunque también en el tercer día (20 HH), aparecen las células horizontales, amacrinas y los fotorreceptores (KAHN, 1974). Las neuronas de asociación finalizan las mitosis hacia el octavo día de incubación (34 HH) (FUJITA y HORII, 1963) y los fotorreceptores en el séptimo (30-31 HH).

Las células bipolares son las últimas que aparecen en el sexto día (28-29 HH), completando sus mitosis hacia el noveno día (35 HH) (KAHN, 1974).

Capítulo aparte merece la delimitación de las capas de la retina. Si dejamos aparte la capa pigmentada que aparece durante el 4º día (22-23 HH) y de la que nos ocuparemos más tarde, en el tercer día vemos la capa de células ganglionares y una capa de fibras ópticas (HUGHES y LAVELLE, 1975). En el 4º día se añaden dos capas de neuroblastos.

En el 5º día (25-27 HH) podemos distinguir ya cinco capas (limitante externa, neuroblastos de fotorreceptores, neuroblastos de horizontales y amacrinas, células ganglionares y capa de fibras ópticas) (O'RAHILLY y MEYER, 1959). En el 6º día (28-29 HH) aparecen las células bipolares, mientras que las ganglionares se han extendido ya, por toda la retina (COULOMBRE, 1955).

Las células horizontales y amacrinas se diferencian en el séptimo día (30-31 HH), a partir de los neuroblastos comunes, distribuyendo estas últimas sus ramificaciones en la plexiforme interna hacia el 8º día (33-34 HH) (HUGHES y LAVELLE, 1974). En el 9º día (35 HH) aparece la plexiforme externa (HUGHES y LAVELLE, 1975). Finalmente en el 10º día de incubación (36 HH) se pueden delimitar todas las capas de la retina, aunque haya células que no están completamente diferenciadas, como ocurre con los fotorreceptores, que en el 9º día sobrepasan la limitante externa y en el 10º día comienzan a diferenciarse los artículos externos.

En relación con las sinapsis, parece ser, que no se establecen funcionalmente en la retina hasta los días 13 y 14 de incubación (39-40 HH) y son las que tienen lugar entre las células bipolares, amacrinas y ganglionares en la capa plexiforme interna (SHEFFIELD y FISCHMAN, 1970; HUGHES y LAVELLE, 1974; HORDER y MASHKAS, 1982).

Las células ganglionares mandan los primeros axones al pedículo óptico entre el 3º y 5º día de incubación (ROGERS, 1957; KISTLER y LA VAIL, 1979).

Hemos visto que la capa interna de la vesícula óptica secundaria da lugar a la retina neurosensorial (*pars optica retinae*) y a la retina ciega (*pars caeca retinae*). La retina ciega es la continuación, hacia delante, de la retina neurosensorial y tapiza por dentro al epitelio pigmentado de la región anterior de la coroides (*pars plana retinae*), del cuerpo ciliar (*pars ciliaris retinae*) y del iris (*pars iridae retinae*).

La transición entre las retinas visual y ciega se conoce como *pars terminalis retinae* y no como *ora serrata* de los mamíferos, ya que en las aves no tiene forma de sierra.

La retina de las aves adultas, presenta una organización similar a la del resto de vertebrados, aunque debemos matizar que es más gruesa que la de muchos animales y que sus estratos están definidos con más perfección que en otros vertebrados (WOOD, 1917).

Respecto a diferencias con los mamíferos, la más importante es la avascularidad de la retina de las aves, existiendo en su lugar el pecten, una estructura vascularizada

que desde la línea de cierre de la fisura óptica, se introduce en el espesor del cuerpo vítreo.

Entre las distintas especies de aves también existen diferencias; destacamos la presencia de más de una fovea, especialmente en las aves de presa (ROMANOFF, 1960; PEARSON, 1972).

Desde que se inicia la invaginación de la vesícula óptica, comienzan a verse algunas diferencias entre las células de la capa interna y externa. Las células de la capa externa (esbozo del epitelio pigmentado) presentan núcleos más grandes y menor volumen citoplasmático que las células de la capa interna (esbozo de la retina). Estas últimas, sin embargo, presentan mayor número de mitosis.

Entre el tercer y cuarto día de incubación (18-22 HH), la región central de la capa externa, presenta una sola hilera de células cúbicas; mientras que en los bordes, la vesícula es más gruesa y existen dos hileras de células que mantienen la actividad mitótica hasta que finaliza el crecimiento del globo ocular. (WEYSSE y BURGESS, 1906).

En trabajos realizados por HARRISON (1952), se ha demostrado que *in vitro* las células procedentes de la capa externa de vesículas ópticas derechas de embriones de pollo, presentan una tendencia inherente a pigmentarse antes que las células que proceden de las vesículas ópticas izquierdas.

En el embrión de pollo los primeros granos de pigmento en la capa externa de la vesícula óptica, se observan entre las 64 y 72 horas de incubación (KEIBEL y ABRAHAM, 1900; TELLO, 1923; KUSAGAWA, 1927); aunque otros autores sitúan la

pigmentación en estadios posteriores del desarrollo (KESSLER, 1877; WEYSSE y BURGESS, 1906; O'RAHILLY y MEYER, 1959). Cuando se inicia la pigmentación las células pierden la forma cúbica y se van aplanando (SMITH, 1929).

La pigmentación es visible macroscópicamente en los estadios 21-22 HH (HAMILTON, 1952) y 23 HH (O'RAHILLY y MEYER, 1955).

La localización de los primeros granos de pigmento y su extensión varía. Para SLONAKER (1921), en el gorrion la pigmentación progresa desde los bordes de la vesícula óptica hasta la región central; mientras que en el embrión de pollo tiene lugar en dirección opuesta; es decir del fondo a los bordes de la vesícula óptica (LEPLAT, 1914; HAMILTON, 1952).

La mayor parte de los autores están de acuerdo en la situación de los granos de pigmento en el interior de las células. En los bordes de la vesícula óptica el pigmento se localiza en la superficie interna de las células; mientras que en la zona central se encuentran en la superficie externa de las células. (SLONAKER, 1921; O'RAHILLY y MEYER, 1959).

El pecten es una estructura en forma de "abanico" que se proyecta en el interior del globo ocular de las aves.

La base del pecten se sitúa en la línea de cierre de la fisura óptica. El primer pliegue se localiza en la cabeza del nervio óptico (SZILY, 1922). En la mayoría de las especies, su longitud es igual a la mitad del diámetro horizontal del globo ocular, aunque en algunos casos llega a contactar con la cápsula posterior del cristalino (PEARSON, 1972).

El borde libre del pecten aparece muy plegado pues es mucho más largo que la base.

El número de pliegues varía entre 3 y 30, pero el pollo adulto presenta aproximadamente entre 17 y 18 pliegues (MANN, 1924; HAMILTON y HAMBURGER, 1951).

Las primeras observaciones sobre el pecten fueron hechas por PETIT (1735).

El detalle histológico más importante del pecten es la rica red vascular que presenta. Los vasos sanguíneos transcurren a través de un armazón de tejido pigmentado. Los vasos y el pigmento están rodeados por una membrana que se continúa con la limitante interna de la retina, en la base del pecten (MANN, 1924a).

El origen embriológico del tejido que sirve de soporte a los vasos ha sido un tema de controversia. SLONAKER (1921), publicó que el pecten en el gorrión (*passer domesticus*), está asociado con la coroides y es de origen mesodérmico. BACHSICH y GELLERT (1935), piensan que son células del tejido conjuntivo, como aventuró KESSLER en 1877. BLOCHMANN y HUSEN (1911), defienden que las células pigmentadas son derivados gliales, opinión descartada por RAVIOLA y RAVIOLA (1967), al encontrar que tenían características diferentes a las células gliales del sistema nervioso central. SZILY (1922), LINDAHL y JOKL (1922) y MANN (1924a), aseguran que tienen un origen ectodérmico. O'RAHILLY y MEYER (1961), afirman que el pecten del pollo adulto está formado por una red de vasos sanguíneos especializados y células pigmentadas que representan restos del primitivo ectodermo.

La función del pecten, es otra cuestión que ha planteado discusiones. Está claro que su misión fundamental es la nutrición de la retina por difusión a través del cuerpo vítreo. Esta función se ve facilitada porque el pecten presenta una serie de características como son: La gran cantidad de vasos sanguíneos y de pliegues y la existencia de unas estructuras semejantes a las "microvellosidades", que ofrecen una gran superficie de contacto con el vítreo (SLONAKER, 1918; MANN, 1924; WALL, 1942; DUKE-ELDER, 1958).

Para BACHSICH y GELLERT (1935), el pecten también se encarga de mantener la temperatura del globo ocular, actuando como un elemento de regulación térmica en el ojo de las aves.

KAUTH y SOMMER (1953), establecen que debido a la riqueza en anhídrido carbónico, el pecten es un órgano respiratorio dentro del ojo.

Otros investigadores afirman que esta estructura aumenta la sensibilidad a pequeños movimientos en la oscuridad (PEARSON, 1972). Finalmente debemos mencionar el discutido papel que puede jugar en la acomodación (RABL, 1889).

El desarrollo cronológico del pecten comienza aproximadamente a los dos días y medio de incubación (17 HH), cuando aparece un vaso sanguíneo, la arteria *cupulae opticae*, que hace profusión dentro de la cavidad vítrea a través de la fisura óptica (O'RAHILLY y MEYER, 1959).

En el estadio 26 HH (5 días de incubación), puede observarse como se proyectan un grupo de células, como una pequeña cresta, al interior del globo ocular a lo largo de la línea de fusión de la fisura óptica (SZILY, 1922; ROMANOFF,

1960). Para O`RAHILLY y MEYER (1955), el pecten se reconoce en el estadio 28 HH (5 días y medio de incubación). Esta cresta que presenta un vaso sanguíneo en su base va creciendo y aproximadamente en el noveno día de incubación (35 HH) comienza a plegarse; un día después aparecen los primeros granos de pigmento (36 HH).

A partir del estadio 37 HH (11 días de incubación) la morfología del pecten no difiere mucho de la del pollo adulto (MANN, 1924a), pero el pigmento no se distribuye completamente hasta el estadio 40 HH (14 días de incubación) (O`RAHILLY y MEYER, 1955).

Parece ser que los territorios prospectivos de la retina y del epitelio pigmentado no están determinados en los estadios de vesícula óptica primaria cuando no contacta con el ectodermo superficial cefálico. Su determinación parece que depende de la relación o el contacto que tiene con las estructuras vecinas, fundamentalmente con el ectodermo superficial.

La vesícula óptica primaria y el ectodermo superficial cefálico mantienen entre si una serie de inducciones. DORRIS (1938a) y GAYER (1942), demuestran en sus trabajos que es necesario el contacto entre ambas estructuras, no sólo para que se invaginen, sino para que se diferencie la retina a partir de la capa interna de la vesícula óptica.

Algunos autores han visto que en anfibios, la ausencia del ectodermo superficial provoca una disminución en el número de células de la retina y su transformación en epitelio pigmentado (LOPASHOV, 1960).

Durante el desarrollo, en los anfibios (LOPASHOV, 1948 y 1960), aves (ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a) y mamíferos (STROEVA, 1956), el epitelio pigmentado se diferencia a partir de la capa que está en contacto con el mesénquima periocular (capa externa); mientras que la capa aislada del mesénquima (capa interna) se transforma en retina.

Aunque la presencia del mesénquima periocular es fundamental para la diferenciación del epitelio pigmentado, hay otros factores que son necesarios para que la capa externa de la vesícula óptica se pigmente. Estos factores son los procesos oxidativos (REINBOLD, 1954) y la entrada de vasos sanguíneos en la capa mesenquimatosa que rodea a la vesícula óptica (DABAGHIAN, 1958; JIMENEZ COLLADO y cols., 1978).

Por su parte la capa interna de la vesícula óptica ejerce una inhibición sobre la capa externa, impidiendo que ésta pueda transformarse en retina (ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a; MURILLO FERROL, 1964a; COULOMBRE y COULOMBRE, 1965).

Ambas capas de la vesícula óptica poseen la capacidad de diferenciarse, indistintamente, tanto en retina como en epitelio pigmentado. Esta reversibilidad ha sido demostrada en anfibios (LOPASHOV, 1960 y 1963) y en embriones de pollo hasta el estadio de 36 somitos (18 HH) (ALEXANDER, 1937; DORRIS, 1938a; REINBOLD, 1958; COULOMBRE y COULOMBRE, 1965).

La capa interna adquiere mucho antes que la externa la determinación; es decir, que pierde antes la capacidad de transformarse en otra estructura que no sea retina (DRAGOMIROW, 1932; JOHNSON, 1935).

Ya hemos visto que en los anfibios la retina puede transformarse en epitelio pigmentado (LOPASHOV, 1960).

El caso contrario, es decir la transformación del epitelio pigmentado en retina ha sido descrita por varios autores en diversas especies de animales y utilizando diferentes experimentos (IKEDA, 1938; STONE 1950a y b; STROEVA, 1956; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a; MURILLO FERROL, 1964b; JIMENEZ COLLADO y cols., 1978).

Para la "diferenciación" específica de cada capa de la vesícula óptica no es necesaria la normal diferenciación de la otra (JOHNSON, 1935; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960b; MURILLO FERROL, 1964a). Sin embargo, para que la retina alcance un perfecto desarrollo histológico necesita el soporte del epitelio pigmentado (COULOMBRE, 1955).

Estos hechos quedan demostrados por varios experimentos. FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974), injertan en corioalantoides células aisladas de retina neurosensorial de un embrión de pollo de 6 días y medio de incubación. Estas células se organizan y dan lugar a una retina en la que se observan dos detalles interesantes; no existen fotorreceptores, al no haber epitelio pigmentado y las células ganglionares están alteradas, pues sus axones carecen de órgano diana.

Parecidos resultados se obtienen cuando se provoca la disminución de la presión intraocular durante el desarrollo embrionario (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE, 1956a; JIMENEZ COLLADO, 1977). En estos experimentos se vió que, si bien el globo ocular detenía su crecimiento, la retina continuaba

desarrollándose por lo que se plegaba hacia la cavidad vítrea. Al estudiar los pliegues se comprobó que existían una serie de alteraciones histológicas debidas a la falta de contacto con el epitelio pigmentado.

Los pliegues en la retina se forman porque casi toda la capa interna de la vesícula óptica mantiene la actividad mitótica hasta el día 15 de incubación; mientras que, como en la mayor parte de la capa externa las mitosis cesan en el 4º día de incubación, el epitelio pigmentado no presenta pliegues (COULOMBRE, 1955).

Se sabe que el esbozo ocular izquierdo es más susceptible de alterar su morfogénesis que el derecho (MURILLO FERROL, 1965; BENITEZ RUBIO, 1986).

ORTS LLORCA y cols. (1959 y 1960a y b), RYCHTER (1963) y RYCHTER Y LEMEZ (1963), demuestran la influencia que tiene el factor vascular en el desarrollo y diferenciación del globo ocular y en especial de la retina. La hipoxia origina un déficit en la formación del vítreo por lo que la vesícula cristaliniana y la capa interna de la vesícula óptica permanecen unidas e impiden que ésta se ponga en contacto con la capa externa.

1.3. CUERPO VITREO.

El cuerpo vítreo es una estructura gelatinosa y transparente compuesta por una red fibrosa que llena completamente la cámara vítrea.

La cámara vítrea aparece en el tercer día de incubación como un espacio entre la vesícula óptica secundaria y la vesícula cristaliniana, cuando ésta aún no se ha separado completamente del ectodermo superficial. Desde el principio la cámara vítrea está ocupada por fibras muy finas (KNAPE, 1909; LAGUESSE, 1926).

BRINI y cols. (1962) y PORTE y cols. (1965a), observan que en los estadios 16-17 HH (51-64 horas de incubación) existe una membrana acelular formada por material fibroso que se sitúa entre la vesícula óptica primaria y la placoda cristaliniana.

Estos autores confirman, en estudios con microscopía electrónica en embriones de pollo de tres días de incubación, la presencia de un material fibroso que rodea la vesícula cristaliniana y que es más abundante entre ella y la vesícula óptica. Este material está formado por finos filamentos de menos de 100A de diámetro y por fibras de 200A de diámetro y con un periodo entre 200 y 220A. Estas fibras y filamentos forman acúmulos incluidos en una sustancia granular que desaparecen gradualmente durante el desarrollo (BRINI y cols., 1965; PORTE y cols., 1965a).

Aproximadamente en el 5º día de incubación la futura cámara anterior es invadida por células mesodérmicas que emigran desde el borde de la vesícula óptica. Estas células

limpian el material fibroso que existe en la cámara anterior y forman el esbozo del endotelio corneal (PORTE y cols., 1965b). Sin embargo, no se observan cambios en la estructura de las fibras del cuerpo vítreo.

A partir del 7º día de incubación existe un patrón definido, pues las fibras surgen desde el esbozo del pecten irradiándose en todas direcciones.

Las fibras que se originan en los procesos ciliares se dirigen al ecuador del cristalino y constituyen las fibras zonulares. Estas fibras acaban por fundirse a la cápsula cristaliniana y a los procesos ciliares (ROMANOFF, 1960).

Para KESSLER (1877), el cuerpo vítreo se origina por transudación a partir de los vasos sanguíneos situados en la fisura óptica.

El material fibroso que da origen al estroma primario de la córnea y al vítreo primitivo se origina a partir de prolongaciones citoplasmáticas de las células del epitelio cristaliniano y de la capa interna de la vesícula óptica (STUDNICKA, 1911; HAGEDOORN, 1928; HAMILTON, 1952).

Para DEJEAN y cols. (1958), el cuerpo vítreo está formado por delaminaciones continuas de las membranas basales del cristalino y la retina.

Parece ser que la capa interna de la vesícula óptica es la primera estructura que participa en la formación del cuerpo vítreo primario. Pero una vez que el cristalino se va diferenciando, la actividad retiniana disminuye y la mayor parte de las fibras del vítreo están formadas por el cristalino (PORTE y cols., 1965a).

Cuando el pecten comienza a formarse puede jugar un papel importante en la formación del cuerpo vítreo (HAMILTON, 1952).

Debido al origen común que tienen el cuerpo vítreo y el estroma primario de la córnea, parece seguro que el colágeno juega un papel fundamental en la formación del cuerpo vítreo (DEJEAN y cols., 1958; PORTE y cols., 1965a; BRINI y cols., 1966).

Una de las funciones más importantes del vítreo durante el periodo embrionario es el crecimiento en volumen del globo ocular. Esta característica fué analizada y comprobada por COULOMBRE (1956), pues al extraer vítreo en embriones de cuatro días de incubación, vió que el globo ocular intervenido tenía un ritmo de crecimiento muy inferior al ojo contralateral. Como la retina era la única estructura que continuaba creciendo, casi a ritmo normal, se plegaba en el interior del globo ocular.

1.4. CRISTALINO.

El cristalino es una estructura transparente del globo ocular de las aves adultas.

HUSCHKE en 1832 publicó que: "El cristalino surge de la piel".

NUSSBAUM (1908), observó que a partir del ectodermo superficial se formaban las células y fibras del cristalino.

Hoy se sabe que el cristalino deriva del ectodermo superficial cefálico que está en íntimo contacto con la vesícula óptica primaria y que ambas estructuras mantienen una serie de interacciones recíprocas, como veremos posteriormente.

En el embrión de pollo, la vesícula óptica primaria entra en contacto con el ectodermo superficial, aproximadamente en el estadio de 9 pares de somitos (10 HH) (McKEEHAN, 1951).

La primera señal del esbozo cristaliniano comienza con un engrosamiento del ectodermo superficial que está fuertemente adherido a la pared distal de la vesícula óptica primaria. Este engrosamiento representa el esbozo de la placoda cristaliniana y en el embrión de pollo tiene lugar entre los estadios 12HH (TELLO, 1923; O'RAHILLY y MEYER, 1955) y el 13HH (LILLIE, 1919; McKEEHAN, 1951; HAMBURGER y HAMILTON, 1951).

Inicialmente hay un aumento en la densidad de las células cúbicas del ectodermo que se concentran en la placoda cristaliniana, por lo que esta estructura presenta dos o tres capas celulares que contrastan con la única capa que se observa en el resto del ectodermo (McKEEHAM, 1951). Después las células se alargan perpendicularmente en relación a la superficie aumentando su volumen pero no su número.

Posteriormente la placoda cristaliniana sufre un engrosamiento notable, debido a la aposición de mitosis celulares (ZWAAN e IKEDA, 1969).

Durante el periodo entre 16 y 20 somitos, los cambios en las células de la placoda cristaliniana consisten en una pérdida de vacuolas del citoplasma, reorientación de los núcleos respecto a la superficie de contacto con la vesícula óptica, elongación de núcleos y citoplasma y mitosis (ZWAAN e IKEDA, 1969).

Ya hemos comentado que cuando el embrión de pollo tiene entre 20 y 21 pares de somitos (McKEEHAN, 1951; O'RAHILLY y MEYER, 1955; HILFER, 1983) o entre 21 y 25 (RABL, 1889), aparece una pequeña depresión en el centro de la placoda cristaliniana que acompaña la invaginación de la vesícula óptica. Ambas estructuras continúan fuertemente unidas y a partir de ese momento se habla de fosa cristaliniana y vesícula óptica secundaria.

Durante la invaginación de la placoda cristaliniana existe un proceso de muerte celular que se inicia y alcanza la máxima intensidad en la parte dorsal de la placoda (SCHOOK, 1980c; GARCIA-PORRERO y cols., 1983).

En esta fase existe una orientación de las células en el mismo sentido de las células de la capa interna de la vesícula óptica secundaria (RABL, 1889; McKEEHAN, 1951).

La fosa cristaliniana continúa profundizando hasta que sus bordes externos se acercan, de manera que únicamente delimitan un pequeño orificio que es visible en la superficie externa del embrión durante un corto periodo de tiempo.

La fosa cristaliniana se cierra completamente por fusión de sus bordes y se desprende del ectodermo entre los estadios 17-18HH (RABL, 1889; SLONAKER, 1921; TELLO, 1923; O'RAHILLY y MEYER, 1955; HAY y REVEL, 1969). Una vez que se ha separado del ectodermo se denomina vesícula cristaliniana.

Entre la vesícula cristaliniana y el ectodermo que la cubre, aparecen unas células que KESSLER (1877) llamó "linsenstielreste", LAGUESSE (1926) "merocitos" o células errantes "comedoras" con núcleo picnótico y gotas lipídicas y BIANCHI (1932) células mesenquimales.

Actualmente se sabe que la separación de la vesícula cristaliniana del ectodermo se debe a un doble proceso. En primer lugar se oblitera la luz del pedículo cristaliniano y en segundo lugar aparecen macrófagos cuya función es fagocitar los detritus celulares originados de la separación entre la vesícula cristaliniana y el ectodermo (COHEN, 1961; SCHOOK, 1980c; GARCIA-PORRERO y cols., 1979).

Cuando la vesícula cristaliniana se separa del ectodermo, está rodeada por una material fibroso compuesto por fibras y filamentos inmersos en una sustancia granular (BRINI y cols., 1965; PORTE y cols., 1965a)

Entre el ecuador de la vesícula cristaliniana y los bordes de la vesícula óptica queda un espacio por donde penetra tejido mesodérmico (DEJEAN y cols., 1958).

En el interior de la vesícula cristaliniana existen elementos celulares a los que en un principio se los relacionó con la formación de las fibras cristalinianas (HUSCHKE, 1832). Sin embargo, ya a finales de siglo pasado se vió que esto no

era cierto y que las fibras cristalinianas, como veremos después, se originaban a partir de las células de la pared posterior (SLONAKER, 1921; O'RAHILLY y MEYER, 1955)

MANN (1928), estudiando embriones humanos descubre la existencia de una capa epitelial, menos uniforme que el ectodermo superficial sobre el que se asienta. Esta capa, ausente en peces y aves, está destinada a desaparecer; pero durante la invaginación y cierre de la fosa cristaliniana algunas células de la capa epitelial se introducen en la luz de la vesícula cristaliniana. Finalmente estos elementos celulares degeneran y desaparecen en el periodo embrionario.

Poco antes de la fusión de los bordes de la fosa cristaliniana, la pared proximal que permanece en contacto con la capa interna de la vesícula óptica, inicia un engrosamiento. Por lo tanto, desde este momento el comportamiento de las células de las paredes proximal y distal de la vesícula cristaliniana va a ser muy diferente.

Las células de la pared distal, orientadas hacia la superficie, permanecen prácticamente inactivas conservando su forma cuboidea y constituyen el epitelio anterior del cristalino (GENIS GALVEZ y cols., 1968)

Sin embargo, las células de la pared proximal o medial de la vesícula cristaliniana, aumentan en número y se elongan, sobre todo las situadas axialmente. Sus núcleos también se elongan y emigran hacia la zona media de la célula. (ZWAAN e IKEDA, 1969).

Con la elongación celular, la superficie distal de la pared proximal se proyecta en la luz de la vesícula cristaliniana hasta que contacta con el epitelio anterior y oblitera su luz. Esto ocurre entre el 4º día (KESSLER, 1877) y 5º día de incubación (FRORIEP, 1906; SLONAKER, 1921; HAMILTON, 1952).

Al principio la oclusión no es completa, ya que durante algún tiempo, debajo de la periferia del epitelio anterior queda un anillo (cámara cristaliniana), que rodea la porción lenticular del cristalino. Esta cámara contiene secreciones celulares que al ocluirse la luz quedan comprimidas en esa zona. Finalmente se reabsorben y desaparece por completo la luz (SLONAKER, 1921; HAMILTON, 1952).

A la vez que las células de la pared medial se elongan, van transformándose en fibras. Estas fibras primarias constituyen el núcleo embrionario del cristalino.

A partir del 6º-7º día de incubación (28-31 HH), la actividad diferenciadora queda restringida a un anillo preecuatorial (región germinativa del cristalino). Por lo tanto en la región preecuatorial tienen lugar las mitosis y las células pasan a la región ecuatorial donde comienzan a elongarse, iniciándose así la formación de las fibras secundarias del cristalino (RABL, 1889).

Las fibras secundarias se van colocando progresivamente por aposición sobre las fibras primarias, quedando estas últimas comprimidas en la zona central del cristalino.

En el embrión de pollo, los núcleos de las fibras primarias comienzan a degenerar en el octavo día de incubación (33-34 HH) (ROMANOFF, 1960).

Las proteínas específicas del cristalino han sido caracterizadas químicamente desde finales del siglo pasado.

Estas proteínas son: La alfa cristalina (α); la beta cristalina (β), (ZWANN, 1963; IKEDA, 1965), aunque LANGMAN (1961) la llamó gamma cristalina; y por último una proteína cuya denominación dependía de los autores estudiados. Así, para LANGMAN (1961) es la beta cristalina, para RABAEY (1962) es la FSIC o "primera cristalina soluble importante", pero finalmente se adoptó el término de delta cristalina (δ) (ZWANN e IKEDA, 1965).

Utilizando técnicas de inmunofluorescencia se averiguó el momento de aparición de las diferentes proteínas cristalinianas (VAN DOORENMAALEN, 1966; GENIS GALVEZ y cols., 1968; ZWANN e IKEDA, 1969).

La primera es la delta cristalina (δ), que aparece en las células más profundas de la placoda cristaliniana en embriones de 23 somitos (50-53 horas de incubación, estadio 14 HH). A las 72-84 horas, tanto el epitelio como las fibras, sintetizan esta proteína.

Alrededor de los tres días y medio de incubación (18-21 HH), se detecta la síntesis de alfa cristalina (α) en las fibras cristalinianas centrales. Más tarde se extiende a todo el órgano y finalmente (en el 8º día) la mayor parte de la síntesis corresponde al epitelio.

La última proteína que aparece es la beta cristalina (β), que lo hace en el séptimo día de incubación.

Las gammas cristalinas (γ), son proteínas cuya síntesis se asocia a la diferenciación fibrilar y depende de la edad del animal (GENIS GALVEZ y cols., 1968; ZWANN e IKEDA, 1969).

El origen de la cápsula del cristalino es un punto discutido en la embriología de esta estructura.

KESSLER (1877) y RABL (1898), opinan que es un producto de secreción de las células cristalinianas. Sin embargo, BABUCHIN (1863) y LIEBERKUMN (1872) describen su origen mesodérmico, pues dan gran importancia a la túnica vascular.

Para LAGUESSE (1919), la cápsula del cristalino tiene un origen común con el vítreo primario, el ligamento zonular y la hialoides vítrea. Finalmente O'RAHILLY y MEYER (1959), creen que deriva de una fina membrana que se encuentra entre el esbozo del cristalino y la hoja interna de la vesícula óptica (futura retina).

Ya hemos comentado la importancia que tiene el ectodermo superficial en la invaginación de la vesícula óptica primaria y en la diferenciación de la retina a partir de la capa interna de la vesícula óptica secundaria. (DORRIS, 1938; GAYER, 1942).

A continuación vamos a estudiar cómo la vesícula óptica influye en la morfogénesis del cristalino (inducción del cristalino).

Vemos que entre estas dos estructuras existe una correlación de diferenciación.

SPEMANN (1901) y LEWIS (1904 y 1907), comprobaron que en los anfibios el cristalino se formaba por la acción inductiva de la vesícula óptica. Pero trabajos posteriores demostraron que la inducción del cristalino es un proceso multifásico, en el que influyen al menos dos factores; el mesodermo cefálico que actúa como activador y la vesícula óptica que lo hace como inductor (MANGOLD, 1931; PHILPOTT y COULOMBRE, 1968; KARKINEN-JAASKELAINEN, 1978).

En las aves se ha comprobado que es necesario el íntimo contacto entre la vesícula óptica y el ectodermo para que se desarrolle el cristalino (DANCHAKOFF, 1926; WADDINGTON y COHEN, 1936; ALEXANDER, 1937; VAN DETH, 1940; AMPRINO, 1949a; WEISS y JACKSON, 1961).

McKEEHAN (1951 y 1958), realizó varios experimentos introduciendo cuerpos extraños de distinta composición y naturaleza entre el ectodermo superficial y la vesícula óptica. De esta forma obtuvo resultados completamente opuestos, pues cuando el cuerpo extraño era una membrana de celofán (1951) en el estadio de 6 somitos, no existía respuesta del ectodermo y no se formaba cristalino. Sin embargo, al introducir una membrana de agar (1958) si se desarrollaba cristalino, pues existen sustancias que atraviesan o rodean el agar.

WEISS (1947), dudaba de la existencia de sustancias difusibles entre la vesícula óptica y el ectodermo superficial que participasen en la inducción del cristalino.

REVERBERI (1929), tras extirpar el ectodermo prospectivo cristaliniano y gran parte de la vesícula óptica en embriones entre 7 y 20 pares de somitos, observó algunas evidencias de que el ectodermo regenerado a partir de los márgenes, puede transformarse en cristalino.

De la misma forma, en experimentos de hemiextirpación encefálica en embriones de aves (ORTS LLORCA y NAVARRINA, 1969), no se desarrolla el cristalino en aquellos casos en los que no se forma vesícula óptica. Sin embargo, la formación es incompleta cuando se desarrolla la vesícula óptica, pero no contacta con el ectodermo presuntivo cristaliniano.

La acción de la capa interna de la vesícula óptica no se reduce a un efecto de choque inductor, sino que es necesaria una influencia continua por parte del esbozo retiniano para que exista una diferenciación morfogenética normal del cristalino. McKEEHAN (1954) obtuvo cristalininos más y mejor desarrollados cuando extirpó las vesículas ópticas en estadios avanzados, y más pequeños e indiferenciados en extirpaciones precoces.

La retina es importante, no sólo en la inducción del cristalino como ya hemos visto, sino que ejerce una influencia fundamental en su estructuración; es decir, en la formación de cada una de las partes del cristalino.

Cuando el esbozo cristaliniano de los anfibios se rodea completamente de retina, todo el cristalino se transforma en fibras. (LOPASHOV, 1960; REYER, 1962).

En aves este hecho ha sido demostrado gracias a los experimentos de COULOMBRE y COULOMBRE (1963), y GENIS GALVEZ y cols. (1966 y 1967). Si dentro de la vesícula óptica se gira 180° el cristalino, las células del epitelio anterior que se ponen en contacto con la retina se transforman en fibras; mientras que las fibras que habían iniciado su formación desaparecen al perder el contacto con la retina. Esta última observación fue puesta en duda por CLAVERT (1972), pues vió que en mamíferos, las fibras cristalinianas continuaban su diferenciación normal cuando perdían el contacto con la retina. Llega un momento en el que la retina no es necesaria para que el cristalino continúe su desarrollo.

Parece ser que si se injerta una vesícula óptica (con su vesícula cristaliniana) en región auditiva, la superficie del cristalino que contacta con el otocisto forma una especie de formación fibrilar secundaria (DRAGOMIROV, 1929).

Gracias a los trabajos mediante heteroinjertos entre diferentes especies de anfibios, se sabe que el tamaño del cristalino depende de la especie y no del tamaño del ojo receptor (HARRISON, 1929).

No solamente el ectodermo cefálico tiene la capacidad de transformarse en cristalino, con un estímulo adecuado (MIZUNO, 1970). Para ALEXANDER (1937), el ectodermo del tronco tiene esa capacidad entre los estadios 8 y 9 HH. VAN DETH (1940) opina, sin embargo que es hasta el estadio 10 HH. Este mismo autor comprueba que puede desarrollarse cristalino a partir del ectodermo cefálico hasta el estadio 26-27 HH (5 días de incubación).

De las dos capas de la vesícula óptica, la interna (esbozo de la retina) posee mayor capacidad inductora que la capa externa (esbozo del epitelio pigmentado). Experimentalmente se ha comprobado que la capa externa puede inducir la formación del esbozo cristaliniano, pero es incapaz de continuar su diferenciación (ALEXANDER, 1937; AMPRINO, 1949b).

La acción de la capa interna es mucho más importante, pues a la capacidad inductora se le une la influencia continua que debe mantener para un desarrollo normal del cristalino.

Otra cuestión es saber hasta cuándo tiene la retina, capacidad inductora. LOPASHOV (1960) en anfibios, confirma que el ectodermo embrionario es capaz de transformarse en cristalino, siempre que se ponga en contacto con una retina que aún no haya comenzado su estratificación en capas.

Finalmente queda el tema de la regeneración cristaliniana.

La regeneración del cristalino a partir del borde de la vesícula óptica fué comprobada en algunas especies de anfibios (REYER, 1962 y 1965; EGUCHI, 1967; STONE, 1967; YAMADA y cols., 1973). Este fenómeno, denominado "regeneración de WOLFF", ha sido estudiado en aves por algunos autores.

La extirpación del cristalino se sigue, en algunas especies animales, de su regeneración a partir del borde iridiano (REYER, 1962; GENIS GALVEZ, 1962).

Las primeras descripciones de la regeneración de WOLFF en embriones de pollo fueron realizadas por BARFURTH y DRAGENDORFF, en 1902.

ALEXANDER (1937), obtiene fibras cristalinianas a partir del epitelio pigmentado y del borde del iris; pero dice que para ello es necesaria la presencia de ectodermo. Sin embargo, DORRIS (1938a), al cultivar vesículas ópticas sin ectodermo obtiene fibras cristalinianas.

VAN DETH (1940), afirma que en el embrión de pollo existe regeneración de WOLFF, pero sus resultados no son aceptados por algunos autores debido los métodos utilizados (ORTS LLORCA, 1975). Sin embargo, McKEEHAN (1961) no observó este fenómeno tras la extirpación del esbozo cristaliniano entre los estadios 18-23 HH.

Gracias a los trabajos de GENIS GALVEZ (1962) y WEDLOCK y McCALLION (1968), en la actualidad muchos investigadores creen en la posibilidad de que en las aves exista regeneración de WOLFF del cristalino; aunque para concluir con esta cuestión, hoy no puede afirmarse ni negarse categóricamente que en las aves sea posible la regeneración de WOLFF.

En experimentos *in vitro* se ha logrado la diferenciación de esbozos cristalinianos rudimentarios, a partir del ectodermo cefálico. Estos esbozos llegan a sintetizar proteínas específicas del cristalino (MIZUNO y KATOH, 1972).

De la misma manera que en el desarrollo y diferenciación del cristalino participan determinadas estructuras embrionarias, el propio cristalino a su vez, influye en la formación de otras estructuras como por ejemplo: La córnea, el vítreo, la cámara anterior, el tamaño del orificio pupilar y además inhibe la formación de otro cristalino a partir del ectodermo o del borde del iris (ORTS LLORCA, 1975).

1.5. CORNEA Y CAMARA ANTERIOR.

La córnea es, junto al cristalino, una de las estructuras transparentes que forman parte del globo ocular de las aves adultas.

Antes de que la vesícula óptica primaria se ponga en contacto con el ectodermo superficial, entre ambas estructuras se encuentra el ectomesénquima cefálico que en su mayor parte deriva de la cresta neural. Este tejido, en fases posteriores del desarrollo da lugar a estructuras "ectodérmicas" y "mesenquimales" (HARRIS, 1955).

Cronológicamente, en la córnea, la primera capa que aparece y la última en completar su desarrollo es el epitelio corneal. Esta capa es la más superficial y deriva del ectodermo que recubre la vesícula cristaliniana cuando ésta se ha desprendido del ectodermo (KESSLER, 1877; AMPRINO, 1949a; NEYFACH, 1952).

Cuando la vesícula cristaliniana se separa del ectodermo superficial (esbozo del epitelio corneal), está rodeada por una sustancia granular que contiene fibras y filamentos y que tiene un aspecto mesenquimal (BRINI y cols., 1965; PORTE y cols., 1965a). Esta sustancia considerada por KESSLER (1877) como el primer esbozo de la córnea propia, fue denominada de varias formas: "vítreo anterior" (KNAPE, 1969); "mesostroma" (STUDNICKA, 1911; MIGAZZO, 1932); "membrana direccional" (O'RAHILLY y MEYER, 1955) y "estroma corneal primario" (HAY y REVEL, 1969).

El origen de esta sustancia también ha sido interpretado de diferentes maneras. KESSLER (1877), dice que es un exudado albuminoso; SEEFELDER (1926) descubrió una red de fibras procedente de los epitelios del cristalino y córnea y de la vesícula óptica secundaria. REDSLOB (1935), observa una masa compacta derivada de las membranas basales del cristalino y del epitelio corneal.

Entre los estadios 17 HH (O'RAHILLY y MEYER, 1955) y 18 HH (HAMILTON, 1952), el esbozo del epitelio corneal tiene en su espesor dos hileras de células. Las células de la capa basal del epitelio se hipertrofian; este hecho contrasta con el ectodermo de otras regiones del embrión en cuyo espesor no se observa ninguna modificación (LAGUESSE, 1926).

Aproximadamente en el 4º día de incubación (22-23 HH) aparece una capa de células procedentes del tejido mesodérmico que se encuentra sobre los bordes de la vesícula óptica y que utilizando el andamiaje del material fibrilar o estroma primario de la córnea se introduce desde la región límbica hacia el centro. Esta primera oleada mesodérmica da lugar al endotelio corneal en el estadio 25 HH y se sitúa formando una capa debajo del epitelio y paralela a él (KNAPE, 1909; LAGUESSE, 1919; HAGEDOORN, 1928; RESLOB, 1935; O'RAHILLY y MEYER, 1959; PORTE y cols., 1965b).

Entre el epitelio y el endotelio de la córnea se forma un espacio ocupado por una sustancia acelular producida por exudación a partir del epitelio corneal.

Este espacio fue denominado "córnea propia" por KESSLER (1877) y actualmente se le identifica como el estrato acelular de la córnea (LADIJENSKI, 1915; LAGUESSE, 1926; MIGAZZO, 1935; LEPLAT, 1939; HAY y REVEL, 1969).

Entre los días 5º y 6º de incubación (26-28 HH) el estrato acelular es invadido por una segunda oleada de tejido mesodérmico desde la periferia al centro. Parte de las células se transforman en fibroblastos que van a sintetizar fibras de colágeno, entre los estadios 28-30 HH. Es el origen del estroma corneal (WATZKA, 1935; REDSLOB, 1935; MEYER y ONRAHILLY, 1959; COULOMBRE, 1965).

Se admite que el estroma corneal se forma sobre un esbozo ectodérmico (estrato acelular), que secundariamente es invadido por elementos mesodérmicos, teniendo pues un origen ectomesodérmico (HERINGA y LOHR, 1926; NAGEOTE y GUYON, 1931; REDSLOB, 1935).

Existe controversia sobre el origen del mesodermo de la primera oleada (endotelio) y de la segunda oleada (estroma). El mesodermo que dará lugar al endotelio deriva de la primitiva línea mesenquimal (LOPASHOV y STROEVA, 1961; HAY, 1968; TRELSTAD y COULOMBRE, 1971); mientras que el mesodermo del que se origina el estroma deriva de la cresta neural (LOPASHOV, 1963).

La cámara anterior del ojo se forma en el periodo que transcurre entre la invasión mesodérmica que origina el endotelio corneal y la que da lugar al estroma. Además la cámara anterior es necesaria para que se diferencie el endotelio corneal a partir de la primera oleada mesodérmica

(COULOMBRE, 1965).

La membrana de Bowman se forma en el estadio 37 HH (11 días de incubación). El origen de la membrana de Bowman ha sufrido varias interpretaciones a lo largo de la historia. Para unos autores lo hace a expensas de las zonas más superficiales del estroma primario que no son invadidas por el tejido mesodérmico que rodea los bordes de la vesícula óptica (KESSLER, 1877; KNAPE, 1909; LAGUESSE, 1919). Otros opinan que se origina a partir de las capas más superficiales del estroma corneal (HAGEDOORN, 1928; MIGAZZO, 1932; MEYER y O'RAHILLY, 1959; COULOMBRE, 1965; POULIQUEN y cols., 1966). Finalmente REVEL y HAY (1965), HAY (1968) y HAY y REVEL (1969) han puesto en discusión este mecanismo y opinan que las células del epitelio anterior de la córnea segregan una fina capa acelular en su superficie interna; aunque para que se diferencie es necesario que exista contacto entre el epitelio corneal y el estroma subyacente.

El origen de la membrana de Descemet se relacionó en un principio al de la membrana de Bowman; es decir, se pensó que se formaba a expensas de las capas más profundas del estroma primitivo de la córnea que no es invadido por células mesodérmicas situadas en el limbo (KESSLER, 1877; KNAPE, 1909; LAGUESSE, 1919). La membrana de Descemet se forma a partir del endotelio corneal. Las células endoteliales producen una membrana basal en su superficie externa o estromal, aproximadamente el 6º día de incubación (28-29 HH) (LAGUESSE, 1926). Cuando se condensa esa membrana basal, se forma la membrana de Descemet en el estadio 38 HH (12 días de

incubación) (REDSLOB, 1935).

Gracias a las técnicas de microscopía electrónica, hoy se sabe que la primera manifestación de la membrana de Descemet aparece en el estadio 35 HH con la presencia de una capa de nodos en la superficie externa del endotelio. El número de capas aumenta de forma progresiva hasta un total de 8 en el pollo tras la eclosión (OHKURA, 1963; BRINI y cols., 1966).

Para que se puedan diferenciar tanto el endotelio corneal como la membrana de Descemet, es necesario que se forme previamente la cámara anterior (HAGEDOORN, 1928; COULOMBRE, 1965; GENIS GALVEZ y cols., 1967).

El espesor de la córnea sufre una serie de variaciones durante el desarrollo a expensas, en su mayor parte, del estroma. En el estadio 30 HH el espesor del estroma es de 140 μm , a partir de ese momento aumenta hasta que en el estadio 35 HH alcanza el valor más alto, 220 μm . Después se reduce progresivamente debido a la deshidratación hasta unas 150 μm en el estadio 40 HH. En este mismo estadio se observa una mayor cantidad de fibras colágenas en las capas interna del estroma (MEYER y O'RAHILLY, 1959; COULOMBRE y COULOMBRE, 1961).

En el momento de la eclosión el espesor del estroma alcanza aproximadamente unas 160 μm y las fibras colágenas presentan un diámetro de 250 Å (HAY y REVEL, 1969).

La córnea, que al principio presenta un radio de curvatura similar al del resto del globo ocular, cambia entre los estadios 33-35 HH (8-9 días de incubación), disminuyendo su radio con relación al de la esclera (COULOMBRE y COULOMBRE, 1961).

En la variación intervienen de forma decisiva la interacción entre dos factores, el aumento de la presión intraocular (COULOMBRE, 1957) y los cambios de las estructuras perioculares, donde la más importante es la esclera (O'RAHILLY, 1962).

El cambio en la curvatura de la córnea, coincide con la condricificación del anillo cartilaginoso en el limbo de la esclera junto a la córnea (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE y COULOMBRE, 1958). A partir de la condricificación, el globo ocular crece como dos segmentos de esfera en vez de hacerlo como una esfera.

Cuando experimentalmente se disminuye la presión intraocular durante el desarrollo, entre otras alteraciones ya descritas, en la córnea se detiene el crecimiento longitudinal (COULOMBRE, 1965).

Han sido muchas las investigaciones que se han realizado en aves y anfibios para intentar aclarar qué estructuras oculares participan en la morfogénesis normal de la córnea y en qué medida influyen en su diferenciación. Solamente vamos a mencionar aquellos experimentos que aclaran estas cuestiones, así como el ectodermo de qué zonas tiene competencia para formar epitelio corneal.

El epitelio de la córnea únicamente, se diferencia a partir del ectodermo que se relaciona con la vesícula óptica y con la vesícula cristaliniiana. Al extirpar la vesícula óptica se paraliza la formación del epitelio corneal y el ectodermo se transforma en piel; estas experiencias fueron realizadas en anfibios (SPEMANN, 1901; LEWIS, 1907) y en aves (AMPRINO,

1949a). Por lo tanto la vesícula óptica tiene una importancia fundamental en la inducción del epitelio corneal.

Si se sustituye el ectodermo que cubre las vesículas óptica y cristaliniana por el ectodermo de otras zonas del embrión, éste se diferencia en epitelio corneal pues se relaciona directamente con la vesícula óptica y el cristalino. Es decir, la competencia para formar epitelio corneal a partir del ectodermo embrionario, es muy grande (FISCHEL, 1919; NEYFACH, 1952).

La importancia del cristalino en el origen y diferenciación de la córnea ha sido demostrada por varios investigadores.

La extirpación del cristalino en estadios precoces del desarrollo detiene la histogénesis normal de la córnea (GENIS GALVEZ y cols., 1969). Incluso si el cristalino se extirpa en estadios más avanzados, cuando la córnea ya ha iniciado su diferenciación, ésta pierde progresivamente su estructura (COULOMBRE, 1965).

Estos trabajos indican que la influencia del cristalino no es puntual, sino que su acción se realiza durante un largo periodo del desarrollo embrionario.

Gracias a los experimentos de GENIS GALVEZ (1966), sabemos algo más sobre la influencia del cristalino en el desarrollo de la córnea.

Este autor realizó rotaciones del cristalino dentro de la vesícula óptica y vió que la córnea detiene su desarrollo mientras el cristalino se reestructura; es decir, mientras se transforman las fibras en epitelio anterior y el epitelio

anterior en fibras. Una vez que el epitelio se sitúa en la superficie externa, la córnea continúa su desarrollo.

En aquellos casos donde la reestructuración del cristalino es imposible, la córnea pierde su estratificación.

Por lo tanto, el epitelio anterior del cristalino es el que influye en la estratificación de la córnea.

Finalmente queda por analizar la influencia de la cámara anterior en el desarrollo de la córnea.

Ya hemos mencionado anteriormente que es necesaria la presencia del esbozo de la cámara anterior para que se puedan diferenciar el endotelio corneal y la membrana de Descemet (HAGEDOORN, 1928; COULOMBRE, 1965; GENIS GALVEZ y cols., 1967).

En aquellos experimentos donde GENIS GALVEZ y cols. (1967) observaron que se regeneraba el cristalino a partir de los bordes de la vesícula óptica, sobre todo a partir del epitelio pigmentado; también vieron que únicamente se formaba cámara anterior delante de las zonas del cristalino que habían perdido completamente el pigmento.

Todo esto indica que si el pigmento inhibe directamente la formación de la cámara anterior, influye indirectamente inhibiendo la diferenciación de la córnea, fundamentalmente del endotelio y la membrana de Descemet.

1.6. COROIDES Y ESCLERA.

La coroides es una capa vascular pigmentada que rodea la mayor parte del epitelio pigmentado y que se continúa por delante con el estroma del cuerpo ciliar.

En las aves, la esclera es un verdadero esqueleto que rodea a la coroides. Está formada por un anillo de 12 a 14 huesecillos situados cerca del limbo corneo-escleral y por una cúpula de cartilago hialino que rodea y protege el segmento posterior del globo ocular aunque a nivel de la salida del nervio óptico se interrumpe para el paso de las fibras ópticas (SLONAKER, 1921).

Ambas capas surgen del mesénquima que rodea a la vesícula óptica durante el desarrollo embrionario. Este mesénquima tiene un doble origen pues una parte, el mesénquima axil, procede de la placa precordial de la notocorda. La otra porción, el ectomesénquima, tiene su origen en la cresta neural encefálica.

En embriones de pollo, O'RAHILLY (1962) observa que en las primeras 52-56 horas de incubación se condensa una membrana PAS+, alrededor de la vesícula óptica.

Entre los estadios 25-27 HH (5 días de incubación), LEPLAT (1912) descubre una condensación del mesénquima contiguo a la vesícula óptica. Esta capa continúa el desarrollo y a los 10 días (36 HH) incluye en su espesor la coriocapilar y una membrana basal (O'RAHILLY, 1962). Una capa con vasos sanguíneos de mayor calibre aparece entre los días 13 y 14 HH y en el 18 HH se reconoce con claridad la membrana de Bruch compuesta por tejido elástico (LEPLAT, 1912).

El pigmento aparece en la coroides en el 8º día de incubación (LEPLAT, 1912), aunque otros autores sitúan este detalle un día antes (BRINI, 1949; FRANCOIS y cols., 1963).

Ya hemos comentado que coroides y esclera tienen un origen común, a partir del mesodermo que rodea la vesícula óptica y el primer signo de su aparición es la presencia de una membrana PAS+ entre los estadios 15-17 HH (ONRAHILLY, 1962).

Este autor sitúa el primer esbozo de la esclera en el estadio 24 HH (4½ días de incubación) y está representado por una condensación mesodérmica por fuera de la vesícula óptica, aunque LEPLAT (1912), SLONAKER (1921) y WEISS y AMPRINO (1940) describen que el verdadero cartílago escleral se observa en el 8º-9º día de incubación.

Aproximadamente al 7º día de incubación (30-31 HH) aparecen, a nivel del limbo, entre 12 y 14 papilas esclerales planas rodeando la córnea. Entre el 8º y 9º días (33-35 HH), las papilas hacen relieve y son sustituidas por hueso de osificación membranosa en los estadios 36-38 HH (10-12 días de incubación) (ROMANOFF, 1960).

A partir del 12º día de incubación la esclera se diferencia y desarrolla en dirección dorso-caudal hasta envolver todo el globo ocular, excepto en la región más interna por donde salen los axones de las células ganglionares (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE y COULOMBRE, 1958).

Para ONRAHILLY (1962), es posible observar la esclera definitiva osificada en el estadio 37 HH (11 días de incubación).

Hasta el 4º día de incubación (16 HH), el mesénquima periocular no presenta ninguna especificidad; es decir, que injertado en otra región del embrión sólo se desarrollan fibrocitos. Sin embargo, los estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que a partir de este estadio, el mesénquima que rodea la vesícula óptica muestra capacidad de autodiferenciación, dando lugar a cartilago escleral (WEISS y AMPRINO, 1940; WEISS, 1968; JIMENEZ COLLADO y cols., 1978).

La diferenciación y el crecimiento de la esclera depende, en parte, de factores mecánicos. Si experimentalmente se provoca una disminución de la presión intraocular, el globo ocular detiene su crecimiento y en la esclera se observa un engrosamiento atípico (COULOMBRE, 1956a).

En aquellos casos donde existe un aumento patológico de la presión intraocular, el globo ocular crece más de lo normal y el cartilago escleral se adelgaza (WEISS y AMPRINO, 1940).

Algunos investigadores implican a la retina y/o al epitelio pigmentado como responsables de la inducción del cartilago escleral, pues el tubo neural tiene la propiedad de inducir cartilago (LASH, 1963)

Al hablar del epitelio pigmentado vimos que para su diferenciación era necesario la invasión de vasos sanguíneos en el mesénquima periocular (DABAGHIAN, 1958; JIMENEZ COLLADO y cols., 1978). Por esta razón parece que en un primer momento el mesénquima vascularizado provoca la diferenciación del epitelio pigmentado a partir de la capa externa de la vesícula óptica y más tarde es el mismo epitelio pigmentado el que induce la morfogénesis de la esclera, a partir del

mesénquima que la rodea (ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960; MURILLO FERROL, 1964; REINBOLD, 1968; ORTS LLORCA, 1975).

1.7. IRIS Y CUERPO CILIAR.

Durante el crecimiento de la vesícula óptica, sus bordes se adhieren al ecuador del cristalino, aproximadamente en el 4º día de incubación (LENHOSSEK, 1911; COULOMBRE, 1956b).

Simultáneamente a la primera oleada mesodérmica que da lugar al endotelio corneal, los bordes de la vesícula óptica se alargan y adelgazan llegando a cubrir la región ecuatorial del cristalino. En ese momento el esbozo del iris presenta dos capas, una externa pigmentada y otra interna sin pigmento; ambas constituyen la porción ectodérmica del iris (LINDAHL, 1915; COULOMBRE, 1965). Mientras crecen los bordes de la vesícula óptica, el mesodermo que está en contacto con el esbozo del epitelio pigmentado se desplaza con los bordes pero sin sobrepasar el orificio pupilar (KESSLER, 1877; LENHOSSEK, 1911; COULOMBRE, 1956b).

La retina que forma parte del iris detiene el crecimiento y se hace rudimentaria (*pars iridae retinae*) (COULOMBRE, 1955).

Para O'RAHILLY y MEYER (1955), es posible identificar el primer esbozo del iris en los estadios 28-29 HH (5 días y medio de incubación).

La formación del iris está relacionada, por un lado con el contacto entre el borde de la vesícula óptica y el cristalino (GENIS GALVEZ, 1966) y por otro con la presión intraocular (COULOMBRE, 1956a y 1957; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a).

En el borde libre del esbozo iridiano comienza la formación del músculo esfínter al final del 7º día de incubación (LEWIS, 1903); aunque el desarrollo se inicia entre

el 8º (COLLIN, 1903) Y 9º día (LEPLAT, 1911).

El primer esbozo del músculo esfínter consiste en la aparición de una zona estrecha, sin pigmento alrededor del orificio pupilar (LEWIS, 1903). Este tejido deriva del borde de la capa interna (retina) de la vesícula óptica, que crece más rápidamente que la capa externa; por este motivo el tejido de origen retiniano sobrepasa el epitelio pigmentado. A partir del 10º día de incubación, forma una banda continua alrededor de la pupila (ONRAHILLY y MEYER, 1955).

Aproximadamente en el 9º día, del epitelio pigmentado del iris surge un tejido que rápidamente emigra hacia el estroma iridiano. Al principio este tejido pigmentado aparece de forma discontinua, aumenta en número hasta el día 11 (LEPLAT, 1911).

A partir del día 11 (24-25 HH) comienzan a disminuir las células pigmentadas y en el estadio 27 HH pierden el pigmento y se transforman en mioblastos.

En las aves el músculo esfínter es estriado y su función es contraer la pupila. Como en el resto de vertebrados es de origen ectodérmico ya que deriva del borde de la vesícula óptica secundaria (NUSSBAUM, 1901; ROMANOFF, 1960).

En el pollo existen además músculos radiales dispuestos en dos capas; una capa interna de fibras musculares finas y dispuestas de forma radial y otra capa intermedia de fibras gruesas dispuestas de forma oblicua. La función de los músculos radiales es la dilatación de la pupila, aunque se les imputa una función acomodativa (LEPLAT, 1911); acción ésta muy discutida y puesta en duda por SLONAKER (1921).

Durante el desarrollo, las fibras oblicuas se distinguen aproximadamente en el día 13 de incubación, mientras que las verdaderamente radiales sólo se ven a partir del día 18-19 (LEWIS, 1903).

La estructura del cuerpo ciliar es más completa que la del iris. El número de pliegues varía mucho en las diferentes especies de aves, oscilando entre 85 y 100 en los animales adultos. En el embrión de pollo de 16-17 días de incubación existen aproximadamente 90 pliegues (NUSSBAUM, 1901).

Los primeros procesos ciliares se forman entre el 9º y 10º día de incubación (KESSLER, 1877); otros autores han observado unos pliegues radiados formados por retina y epitelio pigmentado en el 6º día (NUSSBAUM, 1901; ORTS LLORCA, 1975) y en el 8º (LEWIS, 1903)

COULOMBRE (1956b) en sus trabajos, observa que el futuro cuerpo ciliar crece y se adelgaza progresivamente hasta el octavo día de incubación, momento en el que aún no existe ningún tipo de diferenciación morfológica. A partir de ese día comienza a plegarse y los procesos ciliares ya son visibles. A nivel de los procesos ciliares la retina detiene su diferenciación (*pars ciliaris retinae*) (COULOMBRE, 1965)

En la formación del cuerpo ciliar influyen varios factores. Dos de los más importantes son la presión intraocular y la rigidez progresiva del cartílago escleral. El primero provoca el crecimiento en extensión y el adelgazamiento de la zona ciliar; y el segundo se opone a la presión intraocular por lo que limita el crecimiento (COULOMBRE, 1956a y 1957).

El primer signo de los músculos ciliares primordiales aparecen como una banda de mioblastos en la periferia del esbozo iridiano, entre el futuro cartilago escleral y el epitelio pigmentado, aproximadamente en el octavo día de incubación (LEWIS, 1903; LEPLAT, 1911).

Las primeras estrias transversales se observan en el estadio 37 HH (11 días) y la diferenciación completa de las tres divisiones del músculo ciliar son visibles en el estadio 42 HH (16 días) (NUSSBAUM, 1901; LEPLAT, 1911 y 1939).

El ligamento pectíneo comienza su diferenciación a partir del mesodermo que rodea la vesícula óptica, aproximadamente en el estadio 38 HH (12 días); aunque las primeras fibras elásticas no se observan hasta los estadios 39-40 HH. Simultáneamente, en la parte externa del ligamento pectíneo, aparece un vaso sanguíneo venoso con paredes elásticas que rodea la cámara anterior y que forma parte del plexo venoso. Este sistema de drenaje del humor acuoso es el canal de Schlemm (ANGELUCCI, 1881; LEPLAT, 1939).

En el día 16 de incubación, el ligamento pectíneo ya esta presente, pero la diferenciación completa no se adquiere hasta que el animal es adulto (COULOMBRE, 1956b).

2. EMBRION DE CODORNIZ.

El pollo es el ave más utilizada en Embriología debido a la pureza conseguida de las diferentes razas y a los numerosos estudios que sobre ella se han realizado. Por todo ello, actualmente se conoce bastante bien su desarrollo embrionario.

Sin embargo, la codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) es una raza de codorniz originaria de Oriente, cuya crianza fue introducida en Europa y America hace aproximadamente 40 años (TOSCHI, 1959).

Las causas que favorecieron su introducción fueron comerciales, pues presenta una serie de ventajas en relación al pollo. Es un animal muy fuerte que resiste muchas de las enfermedades que afectan a otras aves de crianza como las gallináceas, es fácil de criar y su periodo de desarrollo embrionario es aproximadamente de 16 días, contra los 21 que dura en el pollo.

Aunque existen trabajos sobre su fisiología, morfología, duración del desarrollo y condiciones ambientales idóneas; pocas son las referencias que autores como ROMANOFF (1960), STURKIE (1965) y PEARSON (1972) han hecho sobre la codorniz.

El estudio más completo que se ha publicado sobre el desarrollo embrionario de la codorniz japonesa, fue realizado por ZACCHEI (1961). Esta investigadora observó algunas de las ventajas que presentaba para la investigación en Embriología Experimental y al no existir una descripción sistemática de las fases de desarrollo embrionario, ni una correlación morfológico-cronológica precisa; realizó un trabajo donde

estudia el desarrollo embrionario de la codorniz japonesa, describiendo unos estadios claramente reconocibles en base a elementos morfológicos de fácil identificación.

Existen una serie de factores que son necesarios tener en cuenta, cuando se pretende fraccionar el desarrollo embrionario en estadios basados en caracteres morfológicos.

La edad cronológica y el nivel de organización del embrión no suelen guardar una relación constante. Esta descoordinación tiene tres causas (LILLIE, 1919).

Las dos primeras: El periodo de latencia y el conjunto de condiciones físicas durante la incubación, pueden ser controladas en el laboratorio; pero la tercera que se refiere a las variaciones inherentes a los huevos (la edad de la hembra en el momento de la puesta, el tiempo que tarda el huevo en atravesar el oviducto, la raza, etc...) es prácticamente imposible de controlar.

Estos factores son tan importantes que para dos embriones de pollo de 48 horas de incubación, uno puede tener 9 pares de somitos y el otro 26 (HAMILTON, 1952).

Por todas estas razones ZACCHEI, en su trabajo, prefiere identificar determinados caracteres morfológicos y después indicar el tiempo que tardan en aparecer. El resultado lo obtiene realizando la media tras numerosas observaciones.

Nosotros vamos a resumir algunas características oculares especificando el estadio en el que aparecen.

El periodo de latencia o tiempo que tarda en comenzar el desarrollo del embrión tras introducir el huevo en la estufa, es de aproximadamente 3 horas (PADGETT y IVEY, 1959).

La formación de las vesículas ópticas se inicia en el estadio 6 (4 pares de somitos, 24-26 horas de incubación). La eversión tiene lugar en el 7 (7 somitos, 27-29 horas) y el contacto con el ectodermo lateral cefálico en el 8 (10 somitos, 29-30 horas); en este mismo estadio comienza la constricción en la base de las vesículas ópticas.

En el 9 (13 somitos, 33-34 horas) el esbozo cardiaco tiene forma de "S" y las vesículas ópticas están constreñidas en su base, aunque los pedículos ópticos no están formados hasta el estadio 10 (16 somitos, 34-36 horas).

La placoda cristaliniana comienza a ser visible en el 11 (19 somitos, 36-38 horas) y se engruesa en el 12 (22 somitos, 40-42 horas); en este momento la cabeza y el tronco forman un ángulo de casi 90°.

En el 13 (24-26 somitos, 44-46 horas), se inicia la invaginación simultánea de la vesícula óptica primaria y de la placoda cristaliniana que a partir de ese momento pasan a denominarse vesícula óptica secundaria y fosa cristaliniana, respectivamente.

Cuando los bordes de la fosa se fusionan en el estadio 14 (26-32 somitos, 50-58 horas) se habla de vesícula cristaliniana.

La pigmentación de las primeras células de la capa externa de la vesícula óptica comienza en el estadio 15 (36-40 somitos, 62-68 horas), pero microscópicamente sólo se observa con claridad en el 16 (72 horas).

El pigmento continúa aumentando y en el estadio 18 (4 días de incubación) es posible verlo de forma nítida a simple vista.

El primer esbozo de las papilas esclerales aparece en el estadio 21 (5 días y medio). Además se insinúa el esbozo de la membrana nictitante, que es posible observar con claridad en el 22 (6 días), de la misma manera que se ven aproximadamente 10 papilas esclerales haciendo relieve.

En el estadio 23 (6 días y medio), los párpados comienzan a ser visibles y presentan una forma elipsoidal, mientras que el borde libre de la membrana nictitante se encuentra entre el borde de los párpados y las papilas esclerales.

En el estadio 24 (7 días, 1,1mm. de longitud del pico), aparecen los primeros esbozos de plumas en la cabeza; el párpado inferior ha crecido y su borde libre está junto a las papilas esclerales. Finalmente la membrana nictitante se sitúa más cerca de las papilas que de los párpados.

Tanto el párpado inferior como la membrana nictitante alcanzan el borde de la córnea en el estadio 25 (8 días, 1,8-2mm. de pico). Existen entre 9 y 10 filas de esbozos de plumas, entre los párpados superiores y la línea medio-dorsal. La abertura de los párpados continúa con forma de elipse, pero con el borde rostral aplanado.

Algunos esbozos de las plumas de la cabeza comienzan a pigmentarse en el estadio 26 (9 días, 2,2mm. de pico). Los párpados están más cerrados, por lo que el inferior cubre parcialmente la córnea. En los párpados, sobre todo en el superior, se insinúan los primeros esbozos de plumas.

En el estadio 27 (10 días, 2,1-2,2mm. de pico), continúa cerrándose la hendidura palpebral por lo que la mitad de la córnea está tapada por el párpado inferior. Los esbozos de plumas son claramente visibles en el borde de los párpados y alrededor del orificio de las fosas nasales.

A partir del estadio 28 (11 días, 2,5-2,6mm. de pico) el párpado inferior cubre hasta 2/3 de la superficie corneal; mientras que en el 29 (12 días, 2,8-3mm. de pico) la hendidura palpebral es una pequeña fisura que apenas deja ver la córnea y el borde de los párpados comienza a pigmentarse.

En el estadio 30 (13 días, 3,2mm. de pico), los párpados están completamente cerrados y su borde libre presenta una pigmentación negra muy intensa. A partir del estadio 31 (14 días, 3,4mm. de pico) no se observa ninguna modificación macroscópica a nivel ocular hasta la eclosión en el estadio 33 (16 días).

Las ventajas expuestas por ZACCHEI (1961), sobre la utilización de embriones de codorniz en trabajos de Fisiología Embrionaria y Embriología Experimental, se vieron enriquecidas por las investigaciones de Le DOUARIN (1969).

Esta autora estudió los núcleos celulares de la codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) y observó que debido a su composición y morfología presentaban un gran interés, no sólo desde el punto de vista citológico, sino también embriológico.

Desde el punto de vista citológico, Le DOUARIN (1969) observó que la cantidad de DNA asociada al RNA nucleolar era más importante en esta especie de lo que habitualmente es en

el resto.

Valiendose de la reacción nuclear de FEULGEN y ROSSENBECK, observó que los núcleos celulares de la codorniz y del pollo son completamente diferentes, en cuanto al modo en el que se reparte la cromatina durante la interfase. En la mayor parte de los órganos de codorniz estudiados (tubo nervioso y digestivo, gónadas, mesonefro, pulmón, etc.) los núcleos presentan una masa central de cromatina, que a veces puede ser doble y el resto del núcleo aparece casi vacío.

En otros órganos (hígado y músculo cardíaco) es más frecuente que la cromatina se sitúe en varias masas centrales y/o unidas a la membrana nuclear.

Estas observaciones de Le DOUARIN, permiten considerar la masa central de cromatina que se encuentra en el núcleo de las células de codorniz como un nucleolo.

La disposición de la cromatina en los núcleos celulares del embrión de pollo durante la interfase, es muy diferente ya que se encuentra dispersa o en pequeñas condensaciones repartidas por el núcleo (Le DOUARIN, 1971).

La diferencia entre los núcleos de codorniz y pollo es muy clara en cualquier órgano que se estudie.

Desde el punto de vista embriológico el interés que tiene la diferencia entre los núcleos de estas dos especies de aves es mayor.

Cuando se trabaja sobre las interacciones tisulares durante la organogénesis, mediante técnicas de heterotransplantes y heteroinjertos (homo y heterotópicos) de esbozos; o al estudiar *in vitro* las asociaciones de tejidos de

orígenes embriológicos diferentes, el utilizar estas aves presenta grandes ventajas, puesto que es fácil reconocer las células procedentes de la codorniz y del pollo.

Todas las características que presentan los núcleos celulares del embrión de codorniz, hacen que se la considere como un "marcador biológico".

La utilización de la codorniz como marcador biológico presenta otra ventaja en relación a otros tipos de marcajes como la Timidina tritiada (WESTON, 1963; WESTON y BUTLER, 1966). Los análisis autorradiográficos con esta sustancia suelen desaparecer con el tiempo, aproximadamente a los cinco días (WESTON, 1963); mientras que los marcajes con células de codorniz presentan la característica de ser definitivos (Le DOUARIN, 1969).

Desde la publicación de los primeros trabajos sobre las características del núcleo de la codorniz japonesa, han sido muchos los investigadores que han utilizado el embrión de codorniz como marcador biológico en Embriología Experimental. En este apartado vamos a mencionar brevemente algunos, pues más tarde los comentaremos ampliamente.

Además de los múltiples trabajos de Le DOUARIN y cols. (1973, 1974 y 1975) y de Le LIEVRE y cols. (1975 y 1980), sobre la migración celular y el desarrollo de los derivados celulares de la cresta neural; otros autores han utilizado igualmente la codorniz, considerandola como un marcador biológico.

Las inducciones que la vesícula óptica ejerce sobre el ectodermo presuntivo cristalino fueron estudiadas mediante cultivos por KARKINEN-JAASKELAINEN (1978).

ALVARADO-MALLART y SOTELO (1984) mediante transplantes homo y heterotópicos de esbozos del tectum óptico, investigan sobre la capacidad de adaptación del sistema retino-tectal en las aves. Estos autores, consideran que los trabajos de Le DOUARIN (1969 y 1971) han sido fundamentales en la experimentación embriológica.

La muerte celular en diferentes estructuras nerviosas relacionadas con el sistema visual (ganglio ciliar y núcleos troclear y oculomotor accesorio) fueron estudiadas por NARAYANAN y NARAYANAN (1975 y 1978b), realizando injertos de vesícula óptica; es decir, aumentando las aferencias periféricas.

Finalmente JIMENEZ COLLADO y cols. (1973, 1978, 1981 y 1983) llevan muchos años trabajando sobre el desarrollo, diferenciación y mecanismos inductores de las diferentes estructuras del globo ocular, mediante heteroinjertos heterotópicos heterocrónicos de vesícula óptica.

3. METODOS DE LA EMBRIOLOGIA EXPERIMENTAL.

3.1. CULTIVOS Y CUERPOS EXTRAÑOS.

La Embriología Experimental utiliza diferentes métodos en la investigación de los mecanismos activadores, inductores, diferenciadores, morfogenéticos, etc., de las distintas estructuras embrionarias y de las influencias que ejercen entre sí.

Unicamente vamos a ocuparnos de aquellos que guardan relación con el presente trabajo.

Con los cultivos de tejidos y células aisladas de una estructura u órgano, se puede investigar la capacidad de crecimiento y diferenciación; mientras que cultivando elementos de varias estructuras, pueden aclararse las inducciones que ejercen unas con otras (LEWIS y LEWIS, 1911a y b; DORRIS, 1938a y b; HARRISON, 1952; REINBOLD, 1958; LOPASHOV, 1960; EGUCHI, 1967; MIZUNO, 1970; MIZUNO y KATOH, 1972; YAMADA y cols., 1973; KARKINEN-JAASKELAINEN, 1978).

Otro método consiste en utilizar la incorporación de cuerpos extraños entre dos o más estructuras embrionarias. Se utilizan para impedir el contacto y evitar así las posibles interacciones durante el desarrollo embrionario posterior.

En este apartado vamos a mencionar los trabajos de McKEEHAN (1951 y 1958), que introduce diferentes materiales entre el ectodermo y la vesícula óptica para observar la inducción que ejercen ambas estructuras entre sí. Cuando el cuerpo extraño es una membrana de celofán (1951) no se diferencia cristalino a partir del ectodermo; mientras que si

la separación la realiza con una membrana de agar permeable al agua (1958) si se forma cristalino, pues existen sustancias que pueden atravesar o rodear el agar.

ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a), utilizan un hilo de nylon que introducen en el interior de la vesícula óptica primaria, para que en el desarrollo posterior, este cuerpo extraño se sitúe entre ambas capas de la vesícula óptica secundaria. Entre otros resultados, observaron que el epitelio pigmentado que no se relaciona con la retina neurosensorial, se transforma en retina.

3.2. TRANSPLANTES.

Los transplantes en embriones de aves y de anfibios es una de las técnicas más utilizadas en el estudio del desarrollo del sistema nervioso. Ha sido aplicada a múltiples problemas como la especificidad neuronal (STONE, 1953), la adaptabilidad e hiperplasia de las estructuras (TWITTY, 1932), el análisis de crecimiento de los nervios y las alteraciones en la densidad celular al cambiar la inervación de los campos periféricos (WENGER, 1951; PIATT, 1957; NARAYANAN, 1964).

El transplante consiste en sustituir una estructura por otra. Pueden realizarse entre animales de la misma especie (homotransplantes) o de especies diferentes (heterotransplantes). Al mismo tiempo pueden ser homocrónicos (cuando coinciden los estadios del donante y receptor) y heterocrónicos (si los estadios son distintos). Finalmente, los transplantes pueden ser homotópicos (si el tejido se sitúa en la posición normal que le corresponde) y heterotópicos (cuando se colocan en un lugar que no es su posición normal).

MARTINOVITCH y PAVLOVIC (1958) y MARTINOVITCH (1958), realizan transplantes de parte del cerebro anterior entre embriones de ave, antes de que se establezca la circulación. En estos experimentos utilizaron embriones de pollo y de pato, realizando homotransplantes (pollo-pollo) y heterotransplantes (pato-pollo y pollo-pato).

Entre las conclusiones destacan: El retraso entre 1 y 5 días del periodo de incubación normal, el retraso en el desarrollo y la menor viabilidad en comparación con los animales control; este detalle se acentuaba en los casos de

heterotransplantes.

La gran mortalidad obtenida la explican por la tosca técnica quirúrgica empleada unida a la delicada estructura que manipulan y transplantan. De los embriones que lograron llevar "a término", dos sobrevivieron más tiempo y presentaban un crecimiento inferior al de los controles, pero ambos tenían reflejos alimenticios normales, movimientos coordinados y las funciones visuales y auditivas parecían también normales.

HEATON (1973), realizó transplantes de vesícula óptica de embriones de codorniz (donante) en embriones de pollo (receptor), con la particularidad de que en la intervención colocaba la vesícula óptica donante en la misma posición que estaba la del receptor, antes de extirparla (homotópicos).

En sus resultados destacó la mortalidad postoperatoria que oscilaba del 43% (entre los 2 y 5 días postcirugía) al 82% (entre los días 11 y 17 postcirugía).

Esta autora piensa que la escasa viabilidad de los embriones se debe, no sólo al trauma operatorio y a la interferencia con la integridad natural del embrión, sino que la apertura del huevo para la cirugía dificulta los giros normales del embrión.

En relación con los transplantes vió que la vesícula óptica transplantada se incorporaba al receptor en el 78% de los casos, pero alcanzaba un tamaño inferior que el ojo contralateral del huesped (pollo).

En la mayoría de los embriones aparecían plumas pigmentadas cubriendo el transplante y en general los párpados eran muy pequeños y estaban desplazados.

Aunque este trabajo iba orientado a estudiar las funciones visuales que conseguían los ojos desarrollados a partir de la vesícula óptica transplantada, también describe el grado de diferenciación de algunas estructuras oculares y del núcleo del istmo óptico (NIO).

En el análisis histológico, muestra 10 embriones de los cuales 8 presentan una retina normal y en los dos restantes existe un número muy escaso de células ganglionares.

Aunque no dispone de datos sobre el desarrollo normal y el número de pliegues del pecten en la variedad de codorniz que utiliza, concluye que esta estructura se desarrolló perfectamente, lo que indica que los intercambios vasculares entre el ojo transplantado y el huesped fueron normales.

El último trabajo del que vamos a hacer referencia es el que en 1984 realizaron ALVARADO-MALLART y SOTELO.

Estos autores realizan heterotransplantes homotópicos y heterotópicos; es decir, sustituyen el primordio del tectum óptico del embrión de pollo por el del embrión de codorniz (homotópico) y reemplazan el diencéfalo dorsal del embrión de pollo por el primordio del tectum óptico del embrión de codorniz (heterotópico).

Con estas experiencias, estudian la capacidad de adaptación del sistema retino-tectal en las aves, pues opinan que el desarrollo normal de este sistema ha sido ampliamente estudiado, pero no así su capacidad de adaptación.

Utilizan como donante el tejido de codorniz por ser un marcador biológico duradero (Le DOUARIN, 1969).

Los estudios de los embriones quimera se realizaron con métodos autorradiográficos, HRP y análisis morfométricos. Las observaciones pueden resumirse en estos puntos:

-El primordio del tectum óptico del embrión de codorniz puede desarrollar un tectum óptico totalmente laminado, incluso si se transplanta heterotópicamente.

-Las neuronas ganglionares de la retina del embrión de pollo, no sólo reconocen las neuronas tectales de la codorniz como su órgano diana específico en transplantes homotópicos, sino que incluso se desvían para contactar con el tectum transplantado heterotópicamente.

-En presencia de un transplante, la retina del embrión de pollo es incapaz de innervar una superficie tectal similar o de mayor tamaño que el del tectum control.

-Las regiones tectales que carecen de proyecciones ópticas, ya sean del donante o del huesped, presentan una laminación atrófica.

-El tectum óptico supernumerario diencefálico compite y prevalece sobre el tectum del huesped, como objetivo para las fibras ópticas.

Como observamos en aquellos casos de transplantes heterotópicos, se consigue una estructura supernumeraria que a veces puede parecer un injerto.

3.3. INJERTOS.

Los injertos es otro de los métodos utilizados en Embriología Experimental. Consiste en introducir o incorporar todo o parte de una o más estructuras de un animal en otro; es decir, en los injertos no se realizan intercambios.

La clasificación es similar a la que veíamos para los trasplantes. Los animales pueden ser de la misma especie (homoinjertos), o de especies diferentes (heteroinjertos). Cuando donante y receptor presentan el mismo estadio se habla de injertos homocrónicos y si son de estadios diferentes, injertos heterocrónicos.

Finalmente cuando el injerto se introduce en el lugar anatómico normal, son injertos homotópicos, pero si se incorporan en lugares atípicos del receptor hablamos de injertos heterotópicos.

Es necesario aclarar que aunque es imposible injertar una estructura en el lugar anatómico normal, porque allí se encuentra la del receptor; cuando el injerto se coloca junto a su homólogo, consideramos que el injerto es homotópico.

Pueden realizarse injertos heteroespecíficos entre embriones de diferentes escalas filogenéticas (MARTINEZ ALVAREZ, 1987).

Antes de describir los injertos más característicos entre embriones de ave, queremos destacar los trabajos realizados en anfibios por CONSTANTINE-PATON y cols..

Esta autora y su grupo de trabajo han investigado sobre el desarrollo del nervio óptico y las conexiones retino-tectales en las ranas.

Injertan una vesícula óptica en la región cefálica entre los esbozos oculares del receptor y cuando el animal es adulto estudian la anatomía y las proyecciones del nervio óptico del ojo supernumerario.

Inyectan aminoácidos radiactivos en el tercer ojo y en uno de los ojos propios del receptor y tras una corta supervivencia de dos o tres días observan el patrón que forman las conexiones de las fibras ópticas en el tectum óptico.

El resultado es un patrón en bandas semejante al que presentan la mayoría de los mamíferos en el córtex visual cuando se inyectan aminoácidos radiactivos o HRP, en un solo globo ocular.

Esta imagen en bandas de los mamíferos se debe a la decusación, de aproximadamente el 50%, de las fibras ópticas a nivel del quiasma. La decusación es prácticamente nula en aves y anfibios, pero al añadir un tercer ojo, el tectum recibe aferencias de dos ojos y por esa razón en el tectum óptico se forma un patrón similar al del córtex visual de los mamíferos (CONSTANTINE-PATON y CAPRANICA, 1976a y b; LAW y CONSTANTINE-PATON, 1978; CONSTANTINE-PATON y LAW, 1978 y 1983).

Los injertos entre embriones de ave de la misma especie (homoinjertos) vienen utilizandose desde principios de siglo. Los más frecuentes han sido los homoinjertos heterocrónicos y heterotópicos entre embriones de pollo.

Aunque para el estudio del sistema visual se emplean injertos de vesículas ópticas y/o del sistema nervioso, en algunas ocasiones se han realizado experimentos inversos; es decir, injertos de otras estructuras, como vesículas ópticas en

el mesénquima periocular (MURILLO FERROL, 1964b).

Al principio las vesículas ópticas se injertaban en corioalantoides. Así, HOADLEY (1924) injerta la vesícula óptica de embriones de pollo (E: 24-48 horas de incubación) en membrana corioalantoidea de otro embrión de pollo (E: 9-10 días de incubación). Con estos experimentos estudia el grado de desarrollo de las estructuras del globo ocular.

En algunos injertos se diferencian la mayor parte de las estructuras oculares, excepto la córnea. Normalmente tanto el pecten como el nervio óptico alcanzan un deficiente grado de desarrollo. La retina suele presentar gran número de pliegues que no son acompañados por el epitelio pigmentado.

Este autor concluye afirmando que las vesículas ópticas de los embriones de pollo entre los estadios de 36 a 72 horas de incubación, poseen capacidad de autodiferenciación cuando se extirpan y se injertan en corioalantoides.

DANCHAKOFF (1922, 1924 y 1926), realiza varios trabajos mediante injertos de vesícula óptica y/o ectodermo cristaliniano prospectivo de embriones de pollo de distintos estadios, en corioalantoides (homoinjertos heterocrónicos heterotópicos). La mayor parte de los estudios se encaminaban a esclarecer las inducciones que la vesícula óptica ejerce sobre el desarrollo y diferenciación del cristalino .

Cuando injerta vesícula óptica y ectodermo prospectivo se desarrolla el cristalino, aunque observa que si continúa el contacto entre la vesícula óptica y el ectodermo existe una tendencia a formarse un nuevo cristalino (1924).

También afirma que al injertar ectodermo cristalino prospectivo aislado o separado de la vesícula óptica, no se diferencia el cristalino. Por el contrario si se injertan juntos, sí se forma cristalino (1926).

ALEXANDER (1937), con homoinjertos heterocrónicos heterotópicos de vesícula óptica, también en corioalantoides confirma algunas conclusiones de DANCHAKOFF.

En el 90% de experimentos obtiene tejido ocular en el lugar del injerto.

Afirma que para que se forme cristalino, es necesaria la presencia de la vesícula óptica y que en un mismo injerto pueden aparecer hasta cinco estructuras cristalinas entre cristalino y cuerpos lentoides o cuerpos cristalinos.

El cristalino es una estructura que puede diferenciarse a partir de la epidermis del huesped o conjuntamente del ectodermo del huesped y del injerto.

Estudia las dos capas de la vesícula óptica y afirma que ambas capas prospectivas (retina y epitelio pigmentado) son equipotenciales hasta, al menos, los 36 pares de somitos; aunque observa que la capa externa tiene mayor capacidad de diferenciación que la capa interna.

FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974), ya no injertan toda una estructura o parte de ella, sino que disocian la retina neurosensorial de embriones de pollo de 6 días y medio de incubación y la introducen en corioalantoides.

Gracias a la microscopía electrónica de transmisión, observaron que se diferenciaba una retina neurosensorial prácticamente normal con tres capas nucleares, dos capas

plexiformes y las dos capas limitantes (interna y externa).

Se desarrollaron dos tipos de células ganglionares, las típicas con axón y otras que no presentaban axón.

Las células de Müller se extendían entre las capas limitante interna y externa.

Finalmente observaron que en los fotorreceptores no se habían desarrollado los artículos externos; explicando este hecho por la ausencia de epitelio pigmentado y porque estas células habían sufrido un retraso en el crecimiento.

GOLDBERG (1974), injertó cuadrantes de la retina neurosensorial en el tectum óptico para estudiar el desarrollo de las vías visuales en el embrión de pollo. Pudo observar que los cuadrantes de retina crecían, pero no tenían especificidad para dirigirse a zonas concretas del tectum.

Para estudiar la muerte celular en diferentes estructuras relacionadas con el sistema visual se han empleado varios métodos; la utilización de los injertos se basa en aumentar las aferencias periféricas.

NARAYANAN y NARAYANAN (1975 y 1978a), realizan homoinjertos heterocrónicos de vesícula óptica de embriones de pollo y estudian el ganglio ciliar, el núcleo oculomotor accesorio y el núcleo troclear.

Estos autores no mencionan los porcentajes de mortalidad, supervivencia y éxito obtenidos, ni se ocupan de estudiar el desarrollo del globo ocular.

En sus resultados observan que cuando se aumentan las aferencias procedentes de la periferia, disminuye la muerte celular en el ganglio ciliar y en los núcleos troclear y

oculomotor accesorio; por esta razón, normalmente existe una hiperplasia neuronal.

De la misma forma, mediante homoinjertos homocrónicos heterotópicos BOYDSTON y SOHAL (1979a y b) estudian la muerte celular en el núcleo troclear y en el núcleo del istmo óptico (NIO) contralaterales al injerto y los comparan con los mismos núcleos homolaterales.

En estos trabajos realizaron 416 intervenciones con un porcentaje de éxito del 8%. Queremos destacar las condiciones que estos autores tienen para considerar que el injerto es un éxito:

- Que el ojo injertado esté bien desarrollado de tamaño.
- Que el injerto y el ojo derecho del receptor estén incluidos en la misma órbita.
- La existencia de movimientos oculares visibles.
- Una buena diferenciación histológica de retina y cristalino .

Los estudios en el NIO y en el núcleo troclear se realizaron con la inyección de HRP. Observaron que había un aumento del número de células en los núcleos contralaterales al injerto, debido a que disminuía la muerte celular por el incremento de las aferencias periféricas.

Para finalizar vamos a mencionar algunos trabajos sobre heteroinjetos.

McKEEHAN (1951), injerta vesículas ópticas o zonas presuntivas del tubo neural que originan las vesículas ópticas de embriones de pollo, en varias regiones: Debajo del ectodermo cefálico, en el cuello y en el colon de embriones de

pato.

En aquellos injertos que no había podido separar el ectodermo de la vesícula óptica, observó que siempre se desarrollaba cristalino.

Cuando injerta vesícula óptica prospectiva (pared de tubo neural), observa que solamente se diferencia cristalino a partir de la epidermis que entra en contacto con zonas muy concretas de la pared del cerebro injertado. Esas zonas concretas corresponderían a la futura retina.

NARAYANAN y NARAYANAN (1978b), realizan heteroinjertos de regiones del cerebro entre embriones de codorniz y pollo para estudiar el origen del ganglio ciliar en las aves.

Nosotros en 1.984, comenzamos a realizar heteroinjertos de vesícula óptica entre embriones de codorniz y pollo (PUERTA FONOLLA y cols., 1984; RIAÑO GRANERO y cols., 1986).

Algunos de los trabajos más interesantes sobre heteroinjertos de vesícula óptica en embriones de ave han sido realizados por PUCHADES ORTS y JIMENEZ COLLADO (1973) y JIMENEZ COLLADO y cols. (1978, 1981 y 1983).

En los experimentos iniciales (1973 y 1978), injertan vesículas ópticas de codorniz entre los estadios 8 y 9Z en cavidad celómica de embriones de pollo (E: 16-18 HH); es decir, realizan heteroinjertos heterocrónicos heterotópicos.

Las primeras observaciones resultaron de gran interés, pues el globo ocular presentaba una buena diferenciación y desarrollo; aunque su crecimiento en el tiempo, no se adaptaba al huesped.

En algunas estructuras del injerto existían detalles interesantes, sobre todo a nivel de la retina y del epitelio pigmentado.

En algunos injertos la retina neurosensorial presentaba numerosos pliegues, justificados por la manipulación excesiva del injerto al introducirlo en el huesped.

El epitelio pigmentado no acompaña a los pliegues de la retina, pero en algunas zonas pierde el pigmento y se engruesa, transformandose en retina neurosensorial. En las zonas de transformación no existe mesénquima en contacto con la capa externa.

Por el contrario, en otras zonas el epitelio pigmentado aparecía más grueso y pigmentado. Este detalle coincidía con las zonas donde en el mesénquima se había desarrollado una formación vascular.

En el globo ocular diferenciado a partir del injerto, existe pecten y de su polo posterior parte un nervio óptico cuyas fibras se pierden en el interior de la cavidad celómica, al no tener un órgano diana donde dirigirse.

Basandose en sus propios trabajos, JIMENEZ COLLADO y cols. (1981 Y 1983), realizan heteroinjertos, no sólo de vesícula óptica, sino que añaden una porción de mesencéfalo, para observar la actividad de las fibras del nervio óptico ante la presencia de una estructura nerviosa.

El estudio del globo ocular desveló un ligero retraso en el crecimiento en relación al estadio teórico que debía de tener.

El mesencéfalo injertado se desarrolló como un conglomerado y en su capa germinal contactaba el nervio óptico del ojo, tras un corto recorrido.

Los autores piensan que este detalle demuestra que el mesencéfalo ejerce una acción de atracción especie-específica y dependiente, en relación a las fibras procedentes de las células ganglionares de la retina.

Todos estos autores basaron sus experimentos en los injertos de tejido ocular. Sin embargo, para estudiar los mecanismos de la morfogénesis ocular y los factores que los modifican, MURILLO FERROL (1964b) realizó homoinjertos de placoda auditiva en varias regiones del embrión de pollo (heterotópicos); entre ellas junto a la vesícula óptica y estudió las modificaciones en el desarrollo de las estructuras oculares.

En sus trabajos demostró que el epitelio pigmentado puede transformarse en retina neurosensorial cuando la capa externa de la vesícula óptica se desarrolla junto a la placoda auditiva injertada.

4. JUSTIFICACION. HIPOTESIS DE TRABAJO.

Revisando la bibliografía sobre Embriología Experimental, observamos que no se habían realizado heteroinjertos de vesícula óptica entre embriones de codorniz y pollo, en la región cefálica

Cuando en los trabajos de Embriología Descriptiva, comenzamos a estudiar el desarrollo del globo ocular de las aves, nos dimos cuenta que la mayoría de los autores utilizaban embriones de pollo. Además, como únicamente existe un trabajo sobre el embrión de codorniz, publicado por ZACCHEI en 1961, donde sólo aparecen referencias macroscópicas de todo el embrión; nos planteamos las siguientes metas:

1. Basandonos en los estadios de ZACCHEI (1961), estudiar el desarrollo macro y microscópico del globo ocular del embrión de codorniz.

2. Diseñar una técnica quirúrgica para injertar las vesículas ópticas de los embriones de codorniz, valorando el Método más eficaz para conseguir el mayor número de éxitos.

3. Estudiar el crecimiento y desarrollo de las estructuras oculares para compararlas con los controles y analizar las posibles diferencias.

4. Finalmente observar si, como sucede en los experimentos similares realizados entre anfibios, existen conexiones del injerto (nervio óptico) con el tejido nervioso del receptor.

MATERIAL Y METODO

CONTROLES DE CODORNIZ

Para poder estudiar y comparar el grado de diferenciación que han alcanzado las estructuras oculares desarrolladas a partir de las vesículas ópticas injertadas se han procesado 145 embriones de codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*).

Los huevos se limpian con Alcohol éter (Eter etílico y alcohol absoluto al 50%); se incuban en una estufa MEMERT-UV a 38° centígrados (con variaciones de 0,5°C.) de temperatura y una humedad entre 60% (en los primeros días) y 90% (en el momento de la eclosión) (figura 3).

Los embriones control fueron datados según los criterios de ZACCHEI (Z) (1961).

La clave de los embriones control de codorniz es "CT-".

Hemos escogido cinco embriones de cada estadio, a partir del E: 7 Z., hasta dos días después de la eclosión (1+ y 2+).

A partir del estadio 23 Z, los embriones fueron anestesiados con Eter etílico al 99%.

La fijación se realizó en Formol neutro 10%, durante 30 días y excepto en los embriones somíticos que se fijaron íntegros, en el resto solamente se fijó la cabeza. Durante este periodo se quitan las plumas o sus esbozos, para evitar que rasguen los cortes histológicos.

A partir del estadio 22 Z se procedió a decalcificar las cabezas en Acido Tricloroacético al 5% en Formol neutro 10%. El tiempo de permanencia en el decalcificador oscila entre un día, para los estadios 22-23 Z, hasta 12 días para las codornices de 1 y 2 días posteclosión.

Los cortes se realizan en parafina con un microtomo convencional de raíles tipo MINOT de la casa LEITZ, oscilando el espesor de los cortes entre 7 y 10 μ m. Las técnicas de tinción utilizadas han sido:

-Hematoxilina de CARAZZI.

-BIELSCHOWSKI en bloque

PREPARACION DEL RECEPTOR

Se han utilizado embriones de pollo (*Gallus gallus domesticus*) pertenecientes a la raza Shower blanca, por tener una incidencia espontánea de microftalmias del 1% y un índice de fecundidad del 98% (figura 1).

Los huevos se limpian con Alcohol eter y se incuban a 37° centígrados (con variaciones de 0,5°C.) de temperatura y una humedad entre el 70 y 80% (figura 3).

Durante las primeras 24-48 horas de incubación se extraen 1½ centímetros cúbicos de albúmina a través del polo agudo del huevo, según la técnica habitual y se abre una ventana superior, para evitar que el embrión se adhiera a la cáscara. Ambos orificios se sellan con Parafilm y parafina líquida (figura 2).

Una vez que el embrión alcanza el estadio deseado para la intervención, aumentamos el tamaño de la ventana superior del huevo para conseguir un mayor campo operatorio y lo colocamos bajo una lupa estereoscópica de gran aumento NIKON SMZ-10 (figura 4).

Estadiamos los embriones según los criterios de HAMILTON y HAMBURGER (HH) (1951).

Para poder visualizar las estructuras coloreamos primero la membrana alantoidea con una mezcla de Azul Nilo y Agar-agar y después la región del embrión que vamos a manipular.

Con un microbisturí de tungsteno (cuyo diámetro en la punta alcanza aproximadamente 40-50 μm) se cortan las membranas y se realiza una incisión en la zona elegida para cada método, como especificamos más adelante. Así dejamos el receptor preparado.

OBTENCION DEL INJERTO

De la misma forma que en los controles hemos utilizado, como donante, embriones de codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*). Los huevos se preparan e incuban de la misma manera.

Cuando calculamos, por el tiempo de latencia e incubación, que los embriones han alcanzado el estadio deseado (27-48 horas, según cada método), se abre el huevo, se separa la clara e introducimos la yema en PBS (Solución Buffer Fosfato) a 37° centígrados. Con unas tijeras de iridectomía cortamos cuidadosamente el disco embrionario separandolo con unas pinzas de relojero de la membrana y restos de la yema.

Colocamos el embrión en un pocillo negro y teñimos la región cefálica con una mezcla de Azul Nilo y Agar-agar y lo estadiamos según los criterios de ZACCHEI.

Con la ayuda de las pinzas de relojero, las tijeras de VANNAS y el microbisturí de tungsteno aislamos la vesícula óptica derecha que transportamos al receptor mediante una microcucharilla o con la micropipeta de SPEMANN (figuras 6 a 8).

En todos los casos se pretendía aislar la vesícula óptica con parte del pedículo óptico y el correspondiente ectodermo superficial, en el que a veces ya había comenzado la diferenciación del esbozo cristaliniano.

TECNICA QUIRURGICA

En la realización de los injertos hemos utilizado tres métodos, que denominamos: Método A, B y C.

De un total de 320 embriones operados, 100 lo fueron con el Método A, 70 con el B y 150 con el C.

La clave para identificar los embriones quimera es sencilla, pues todos comienzan con la letra clave "O-" y después un número del 1 al 320 por orden cronológico de intervención.

Del 0-1 al 0-100 fueron operados por el Método A, del 0-101 al 0-170 por el B y del 0-171 al 0-320 por el C.

Existen una serie de condiciones que es necesario tener presente cuando se trabaja en Embriología Experimental. En primer lugar el ambiente estéril que debe rodear en todo momento la manipulación de los embriones; para ello el laboratorio está dotado de lámparas germicidas y el material quirúrgico se mantiene en un esterilizador (figura 5).

Otra condición importante es la de tener perfectamente sistematizado cada paso de la intervención. Así creemos que es fundamental comenzar preparando el receptor y una vez realizada la incisión proteger la ventana superior del huevo mientras procedemos a la obtención del injerto. Es necesario hacerlo en este orden para evitar al máximo la hidratación progresiva que sufre la vesícula óptica mientras se encuentra en PBS.

La hidratación provoca una menor viabilidad del injerto por la propia alteración de los tejidos; además el incremento del volumen hace que aumente la manipulación para conseguir introducirlo en el receptor.

Una vez que hemos depositado el injerto "*in ovo*", es importante introducir en la incisión al menos dos tercios de la vesícula óptica, colocando en la zona más interna de la incisión el pedículo óptico. Esto puede obligarnos a manipular el injerto en exceso, lo que a veces provoca roturas de la vesícula óptica. En algunas ocasiones nos hemos visto obligados a cambiar el injerto y en otras los hemos dejado tal como estaban.

A continuación describimos los tres métodos utilizados en la realización de los injertos (ver esquema):

METODO A

En este método las vesículas ópticas proceden de embriones de codorniz entre los estadios 10 y 13 Z (16-26 pares de somitos, 34-46 horas de incubación) y los embriones de pollo están comprendidos entre los estadios 17 y 21 HH

(2½-3½ días de incubación).

El injerto se introduce en una incisión realizada a nivel del mesénquima periocular del ojo derecho (figuras 9 y 10).

Este método corresponde a heteroinjertos homotópicos heterocrónicos.

METODO B

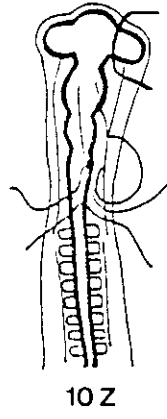
Las vesículas ópticas que proceden de embriones de codorniz entre los estadios 10 y 12 Z (16-22 pares de somitos, 34-42 horas de incubación), se introducen en una incisión realizada en el mesénquima periocular junto al esbozo ocular derecho de embriones de pollo comprendidos entre los estadios 12 y 14 HH (45-53 horas de incubación).

Este método corresponde a heteroinjertos homotópicos homo y heterocrónicos.

METODO C

Para realizar este método, el más numeroso, utilizamos vesículas ópticas procedentes de embriones de codorniz entre los estadios 8 y 12 Z (10-22 pares de somitos, 29-42 horas de incubación), que se injertaron en embriones de pollo comprendidos entre los estadios 9 y 13 HH (33-52 horas de incubación).

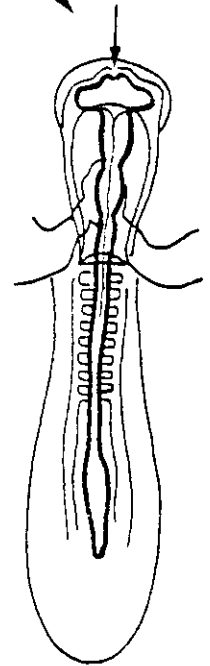
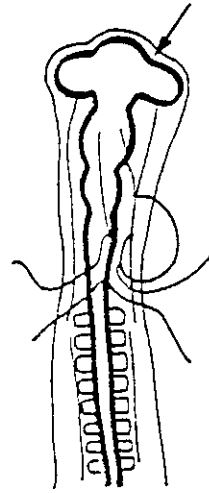
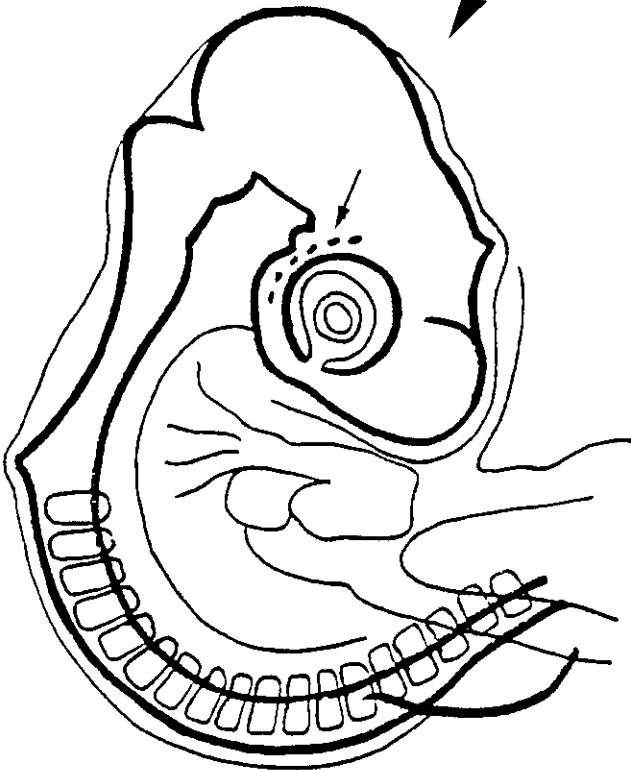
Las vesículas ópticas se introducen en el neuroporo anterior (cuando éste aún permanecía abierto) y en el resto de embriones se realiza una incisión en la línea medio-dorsal del diencéfalo (figuras 11 y 12).



A

B

C



Este método corresponde a heteroinjertos heterotópicos homo y heterocrónicos.

PERIODO DE SUPERVIVENCIA

Una vez que la intervención ha finalizado se cierra la ventana superior del huevo con Parafilm y parafina líquida; se introducen de nuevo en la estufa de incubación y se vigila diariamente su evolución.

Los embriones quimera se sacan y se fijan escalonadamente en el tiempo, para intentar obtener diferentes estadios del desarrollo.

Cuando al abrir la ventana superior el embrión estaba muerto, se valoraba la posibilidad de procesarlo histológicamente realizando una prueba con algún miembro.

En aquellos casos que era imposible incluirlos para el estudio histológico por el deterioro de los tejidos, se les diseccionó la zona del injerto para estudiarlos macroscópicamente.

En este trabajo incluimos algunos embriones que estaban muertos, pero no macerados.

El tiempo de supervivencia oscila entre 3 y 16 días de incubación postcirugía. La razón de no sobrepasar el estadio 44 HH (18 días de incubación), responde al deterioro que sufren algunas estructuras oculares y del sistema nervioso, por los distintos productos utilizados en el proceso de decalcificación necesaria en los embriones a partir de los estadios 29-30 HH.



Fig.1



Fig.2



Fig.3

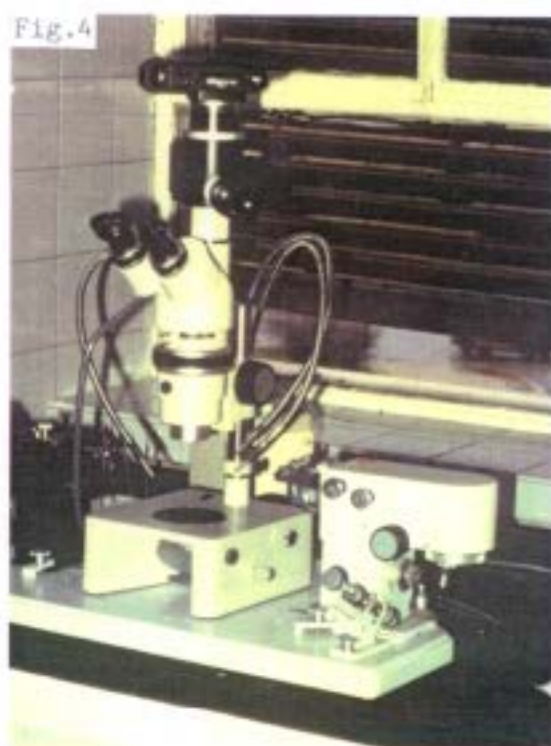


Fig.4

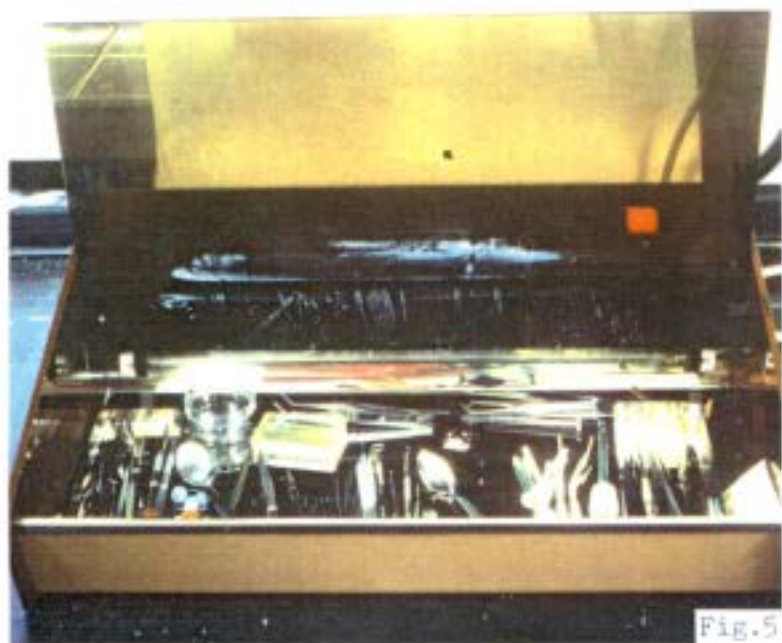


Fig.5



Fig.6

Fig.7 Fig.8

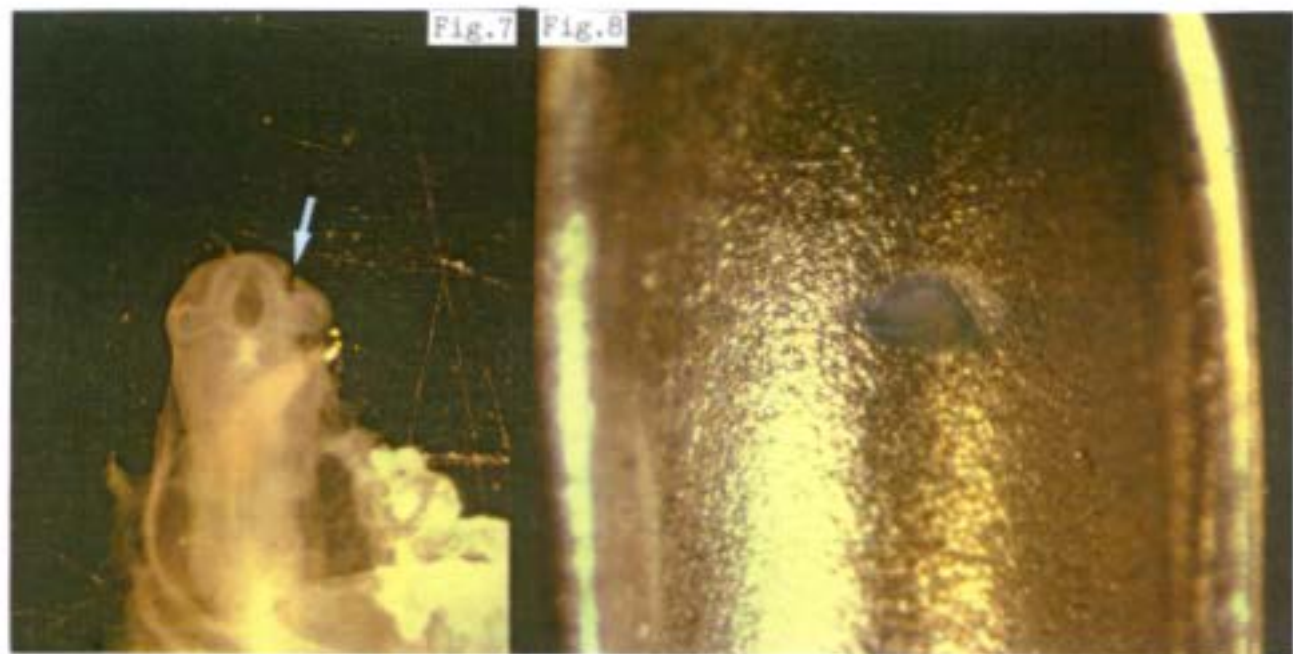


Fig.9 Fig.10

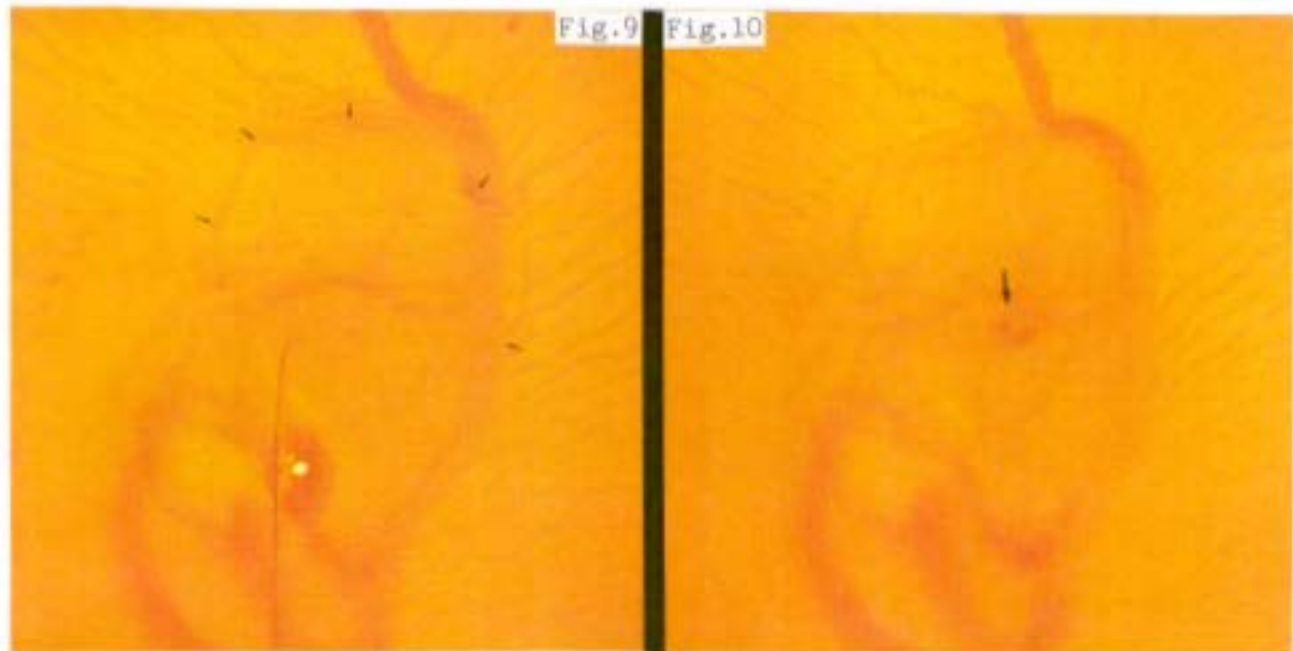


Fig.11 Fig.12



FIJACION

A los embriones de más de 10 días totales de incubación se les coloca un algodón impregnado en Eter etílico 99%, en la ventana superior del huevo, hasta que mueren.

La mayor parte de los embriones se fijaron en Formol neutro 10%.

Durante el periodo de fijación, los embriones se datan según los criterios de HAMILTON y HAMBURGER (HH) (1952); se decapitan y se despluman igual que con los controles de codorniz, para evitar que se rasguen los cortes histológicos.

El tiempo de fijación depende del tamaño de la cabeza y oscila entre uno y tres meses. El fijador se renueva normalmente cada 10 o 15 días.

PROCESO HISTOLOGICO

Tras la fijación algunos embriones, debido a su desarrollo, necesitan decalcificarse para ser cortados. Hemos realizado la decalcificación con ácido Tricloroacético al 5% en Formol neutro 10%.

El tiempo que las cabezas permanecen en el decalcificador oscila, entre un día para los embriones pequeños (29-30 HH) y 19-20 días para los más desarrollados (E: 43+ HH).

Los cortes se realizan en parafina con un microtomo convencional de raíles tipo MINOT de la casa LEITZ. El espesor de los cortes varía entre 7 y 10 μ m.

Las fotografías macroscópicas se realizan con un equipo fotográfico MEDICAL NIKON y las microscópicas con un NIKON-HFX, adaptado a la lupa estereoscópica NIKON SM-2 y al microscopio óptico NIKON-LABOPHOT.

TECNICAS DE TINCION

Las tinciones utilizadas han sido:

METODO DE HEMATOXILINA DE CARAZZI (HC):

1.- Desparafinar con 2 pases por xilol y otros 2 pases por alcohol de 96°.

2.- Lavado con agua corriente.

3.- Tinción con Hematoxilina de CARAZZI. (7-8 minutos)

— Hematoxilina.....1,0 gr.

— Yodo potásico.....0,2 gr.

— Alumbre potásico.....50,0 gr.

— Glicerina.....200,0 cc.

— Agua destilada.....800,0 cc.

4.- Lavado con agua corriente, al chorro. (10-15 minutos)

5.- Eosina amarillenta al 1%. (1-2 minutos)

6.- Lavado ligero con agua.

7.- Deshidratación en alcohol de 96°, alcohol absoluto, carboxilol y xilol.

REACCION NUCLEAR DE FEULGEN (FE):

- 1.- Lavado rápido en ClH normal frío.
- 2.- Hidrólisis en ClH normal a 60°C. (5 minutos)
- 3.- Lavado en ClH normal frío.
- 4.- Lavado rápido en agua destilada.
- 5.- Sumergir en reactivo de SCHIFF. (1 hora mínimo)
- 6.- Sin lavar, sumergirlo (2 pases de 5 minutos) en una mezcla de:

- 9 Partes de tampón fosfato, pH 2,3:
- Fosfato monopotásico.....14,0 gr.
- ClH.....3.5 cc.
- Agua destilada.....1000 cc.
- 1 Parte de metasulfito de sodio al 15%.
- 7.- Lavar en agua corriente. (10 minutos)

TECNICA DE BIELCHOWSKI EN BLOQUE (BB):

- 1.- Fijación en Formol neutro 10% (Carbonato de magnesio a saturación), durante un mes.
- 2.- Piridina al 50% en agua destilada. (2-4 días)
- 3.- Lavado en agua corriente. (12-24 horas)
- 4.- Lavado en agua destilada. (12-24 horas, renovandola varias veces)
- 5.- Nitrato de plata al 3% a 36°C. (2-5 días)
- 6.- Lavado en agua destilada. (pase rápido)
- 7.- Plata amoniacal. (24 horas)
- 8.- Lavado en agua destilada. (1-2 horas, cambiandola con frecuencia)

- 9.- Reducción en Formol neutro 10%. (12-24 horas)
- 10.- Lavado en agua destilada.
- 11.- Inclusión en parafina.
- 12.- Cortes de 10 μ m.
- 13.- Para virar los cortes (BBV), se introducen ya montados en Cloruro de oro amarillo al 1/500. (entre unos segundos y 5 minutos)
- 14.- Fijar en hiposulfito sódico al 5%.
- 15.- Lavado en agua destilada.
- 16.- Montar los cubres.

TECNICA DE SEVIER MUNGER (SM):

- 1.- Desparafinar e hidratar con agua destilada.
- 2.- Precalentar a 60° durante 15 minutos la solución de nitrato de plata al 20%. Meter los portas en la solución de plata caliente y dejarlos en la solución, dentro de la estufa. (15 minutos)
- 3.- Lavar cada porta durante un tiempo en agua destilada y ponerlos en un pocillo limpio.
- 4.- Preparar la solución de plata amoniacal añadiendole 10 gotas de Formol (solución) agitando entre gota y gota; verter la solución rápidamente sobre los cortes hasta que adquieran un color marrón dorado y mover los portas para evitar los precipitados. (entre 5 a 30 minutos)
- 5.- Durante el paso anterior observar los cortes al microscopio, sin lavar, procurando que la diferenciación no sea ni muy fuerte ni muy suave.

- 6.- Lavar bien en agua corriente. (3 veces)
- 7.- Sumergir los cortes en una solución de tiosulfato sodico. (2 minutos)
- 8.- Lavar en agua corriente.
- 9.- Deshidratar en alcohol 96º, alcohol absoluto y en xilol. 2 Pases en cada uno.
- 10.- Montar.

METODO CAJAL-CASTRO (CC):

- 1.- 24 horas en el Fijador (Formol neutro 10%).
- 2.- Lavado en agua destilada (5 minutos).
- 3.- Decalcificación con una mezcla de Hidrato Cloral, Alcohol 96º y ácido Tricloroacético 5% a diferentes concentraciones y periodos de tiempo según el tamaño de las piezas. Después, 24 horas en ácido Tricloroacético 5% en Formol neutro 10%.
- 4.- 24 horas en una mezcla de Alcohol 96º (50cc) y Amoniaco (5 gotas).
- 5.- 7 días en nitrato de plata 1% a 36º centígrados con unas 10 gotas de piridina.
- 6.- Lavado en agua destilada.
- 7.- 24 horas en una mezcla de Hidroquinona, agua y Formol.

RESULTADOS

(CONTROLES CODORNIZ)

ESTADIO 7

ESTADIO 7

Estadio 7: 7 pares de somitos.

27-29 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-4: 7 pares de somitos.

36 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En la región más craneal del embrión se observa que el neuroporo anterior está abierto en la superficie ventral y dorsal del prosencéfalo.

El canal medular es visible y entre mesencéfalo y rombencéfalo aparece un ligero estrechamiento, distinguiéndose ya las tres vesículas encefálicas.

Se inicia la eversión lateral de las vesículas ópticas a partir del prosencéfalo. (figuras 1 y 2)

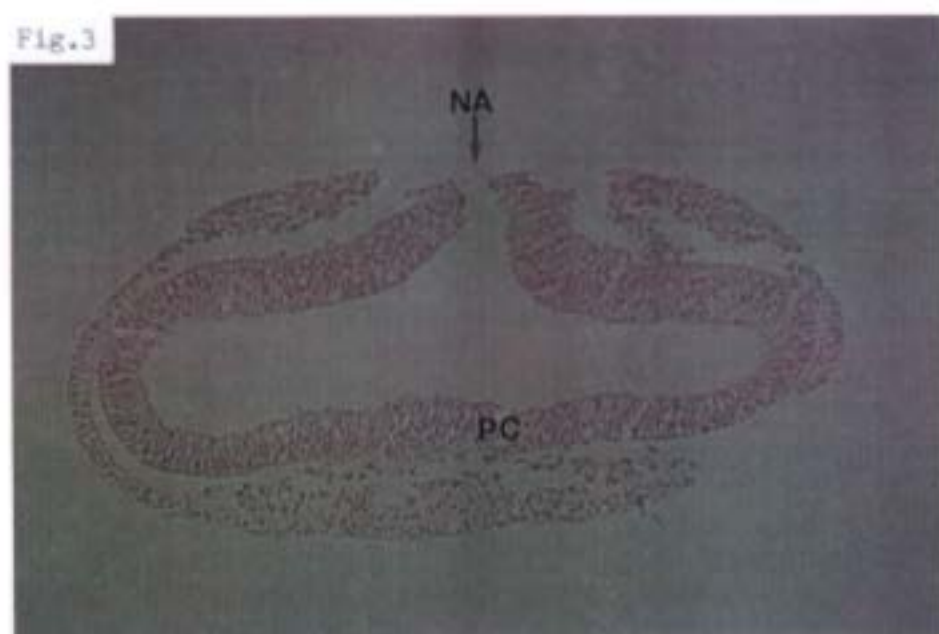
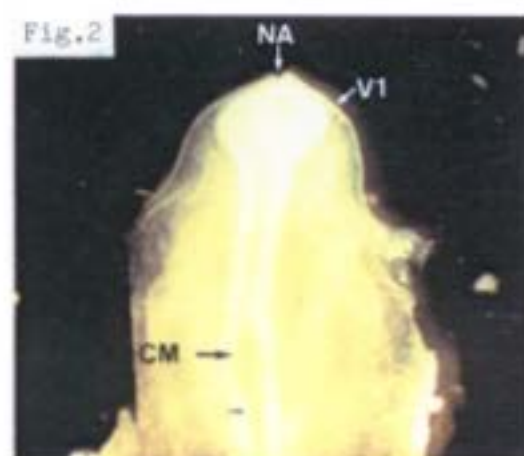
ESTUDIO MICROSCOPICO:

En la región dorsal observamos el neuroporo anterior abierto.

El ectodermo cefálico conserva una morfología uniforme en toda su extensión, exceptuando en la superficie dorsal donde se adelgaza.

Las vesículas ópticas, en su crecimiento, se acercan al ectodermo superficial. Los núcleos de las células ectodérmicas tienden a situarse en el polo basal.

Entre las vesículas ópticas y el ectodermo no existe tejido mesodérmico. (figuras 3 y 4)



ESTADIO 8

ESTADIO 8

Estadio 8: 10 pares de somitos.

29-30 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-6: 10 pares de somitos.

33 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En una visión dorsal del embrión, se observa que el neuroporo anterior, solamente permanece abierto en el extremo más craneal.

Se distingue claramente la separación entre diencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo.

Las vesículas ópticas parecen contactar con el ectodermo superficial a la vez que inician una ligera inclinación caudal.

En la base del pedículo óptico aparece un leve estrechamiento. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El ectodermo superficial es más delgado en la zona dorsal que en la lateral y en la ventral.

La vesícula óptica está rodeada de mesodermo, excepto en la zona que entra en relación con el ectodermo superficial. Entre ambas existe un espacio ópticamente vacío.

Se comienza a identificar mejor la zona que constituye el pedículo óptico y en su base se observa una ligera constricción. (figura 2)

Fig.1

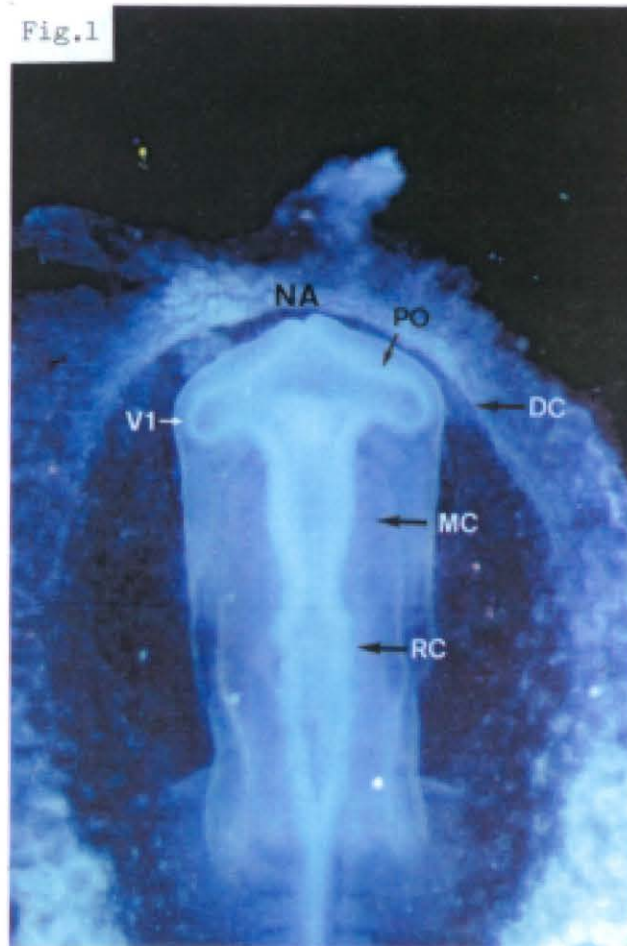


Fig.2



ESTADIO 9

ESTADIO 9

Estadio 9: 13 pares de somitos.

33-34 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-15: 13 pares de somitos.

36 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El neuroporo anterior se ha cerrado en el extremo cefálico .

El esbozo cardiaco, desplazado a la derecha, inicia una incurvación en forma de "S". En él podemos diferenciar el bulbus cordis, el ventrículo, la aurícula y el seno venoso.

En su crecimiento lateral, las vesículas ópticas contactan con el ectodermo superficial, mientras la constricción del pedículo óptico es manifiesta. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

La superficie lateral y ventral de la vesícula óptica contacta con el ectodermo, que a ese nivel alcanza el máximo grosor, mientras que el mesodermo es evidente sólo en la zona dorsal.

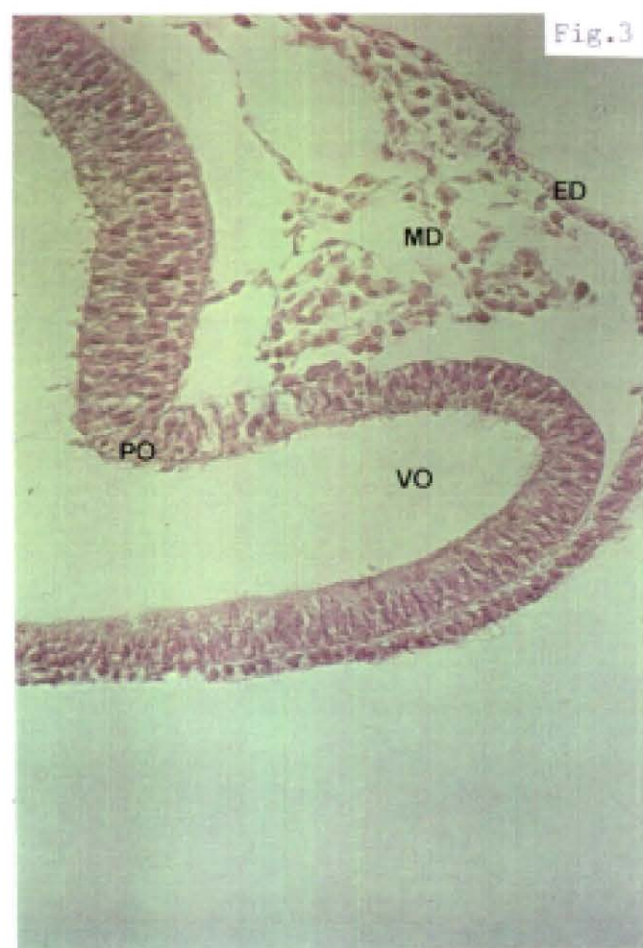
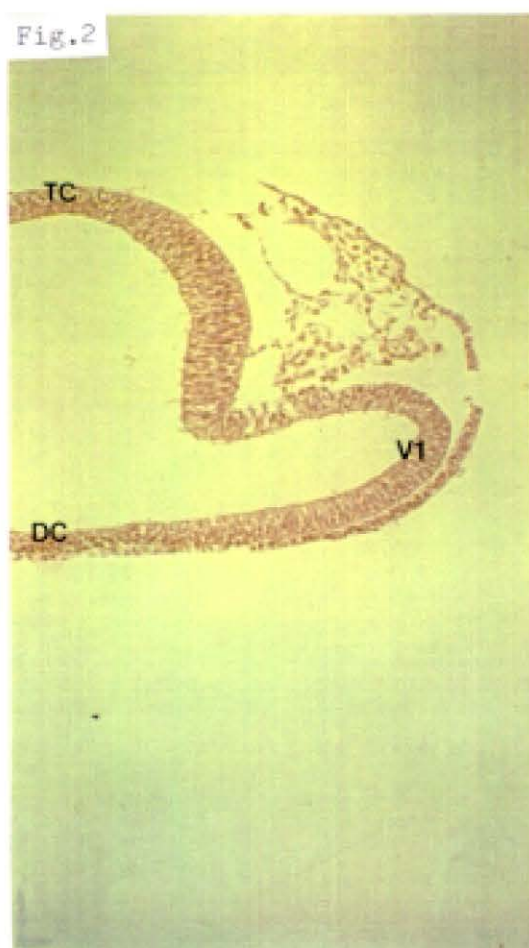
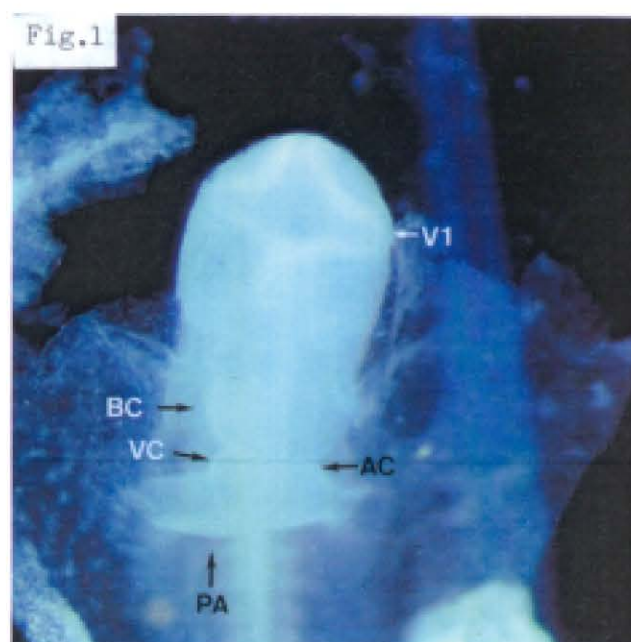
Observamos como las células de la vesícula óptica tienden a orientarse y ordenarse en dirección a la superficie de contacto con el ectodermo. (figuras 2 y 3)

ESTADIO 9: EMBRION CT-15

Fig.1: Visión ventral donde observamos las vesículas ópticas y el esbozo cardiaco. (3,5x)

Fig.2: Corte horizontal oblicuo que muestra como la vesícula óptica surge de la porción lateral del diencéfalo. (HC, 20x)

Fig.3: Detalle en el que vemos claramente las relaciones de la vesícula óptica con el ectodermo y el mesodermo. (HC, 40x)



ESTADIO 10

ESTADIO 10

Estadio 10: 16 pares de somitos.

34-36 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-17: 16 pares de somitos.

40 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

La región cefálica inicia una ligera inclinación ventral.

En el esbozo cardiaco, situado a la derecha del embrión con forma de "S", distinguimos claramente el bulbus cordis y el ventrículo cardiaco. (figura 1)

Las vesículas ópticas crecen en dirección dorsal y lateral haciendo relieve en la región cefálica.

Observamos como las tres vesículas encefálicas: Telencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo, están perfectamente delimitadas. (figura 2)

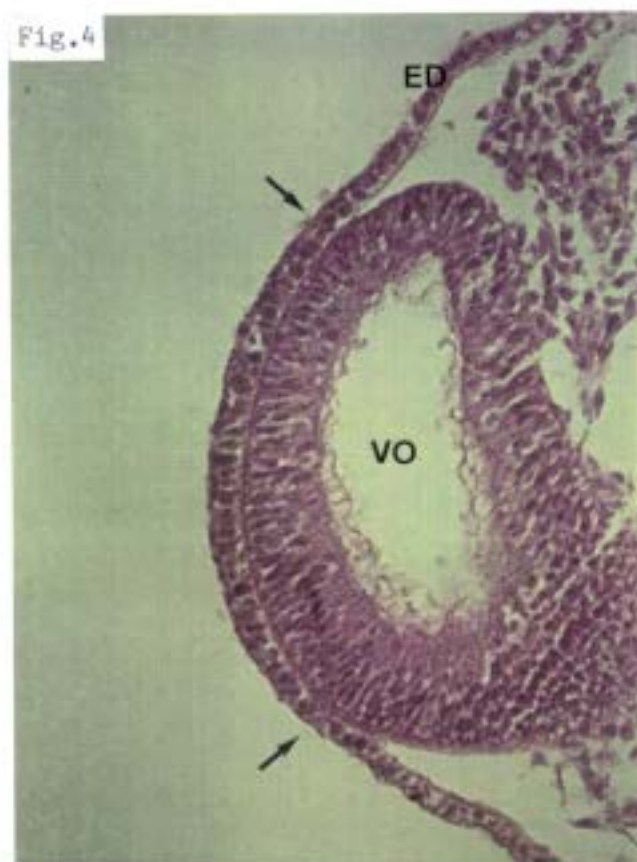
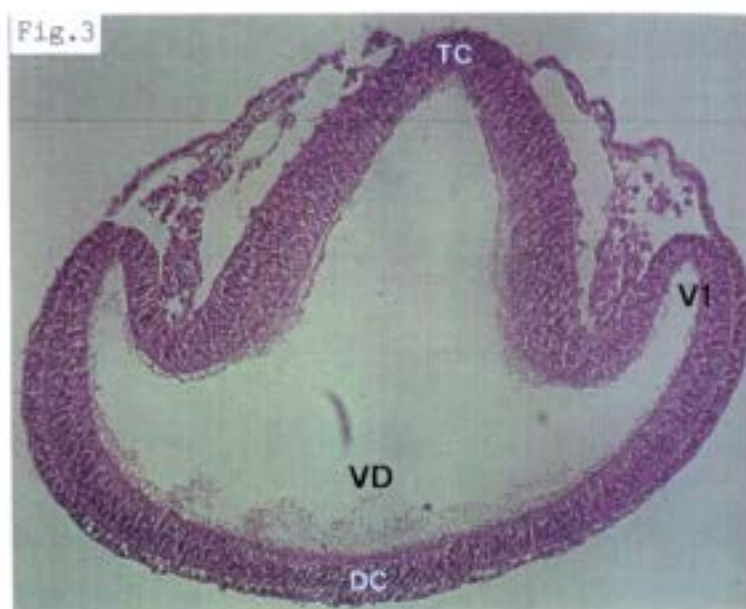
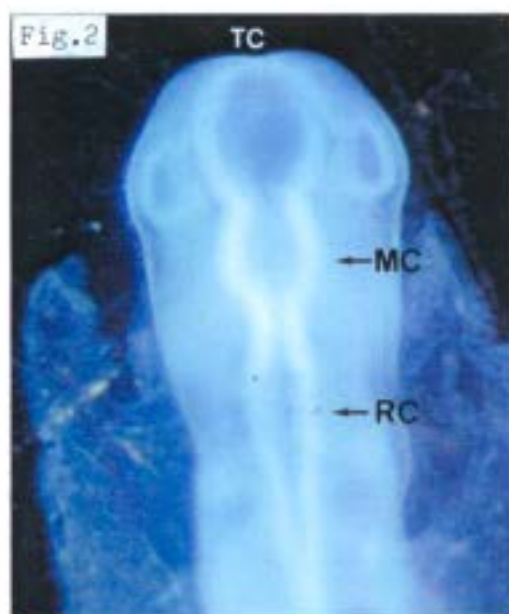
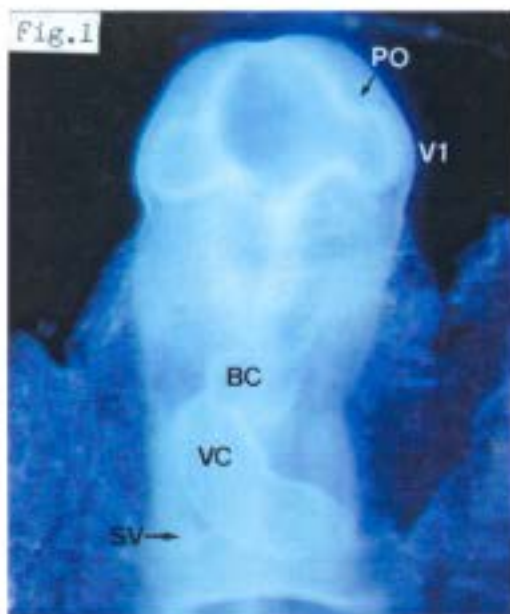
ESTUDIO MICROSCOPICO:

Las vesículas ópticas, en su crecimiento dorsal, están íntimamente unidas al ectodermo superficial. Sus células se orientan hacia la zona de contacto. (figura 3)

El mesodermo se sitúa dorsal a las vesículas ópticas. (figura 3)

El ectodermo superficial que está en contacto con el sistema nervioso tiene mayor grosor. Esta característica se hace más evidente en el ectodermo que se relaciona con las vesículas ópticas. (entre flechas en las figuras 4 y 5)

Los ventrículos ópticos mantienen comunicación con el ventrículo diencefálico a través de la luz de los pedículos ópticos. (figura 3)



ESTADIO 11

ESTADIO 11

Estadio 11: 19 pares de somitos.

36-38 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-21: 19 pares de somitos.

42 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

La flexión ventral de la región cefálica se acentúa.

Continúa el desarrollo del esbozo cardiaco, delimitandose mejor sus estructuras.

La porción distal de las vesículas ópticas aparecen aplanadas y en íntimo contacto en el ectodermo superficial que se hace más evidente por su mayor densidad.

Los pedículos ópticos presentan una marcada constricción de su base, aunque todavía permiten la comunicación entre los ventrículos ópticos y el diencefálico. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Existe un aumento considerable del espesor del ectodermo superficial que está en contacto con el extremo de las vesículas ópticas. Este engrosamiento corresponde a la placoda cristaliniana y representa el primer esbozo del cristalino.

La pared de la vesícula óptica que se relaciona íntimamente con la placoda cristaliniana es más gruesa que el resto.

Las células de ambas estructuras tienden a orientarse hacia la superficie de contacto.

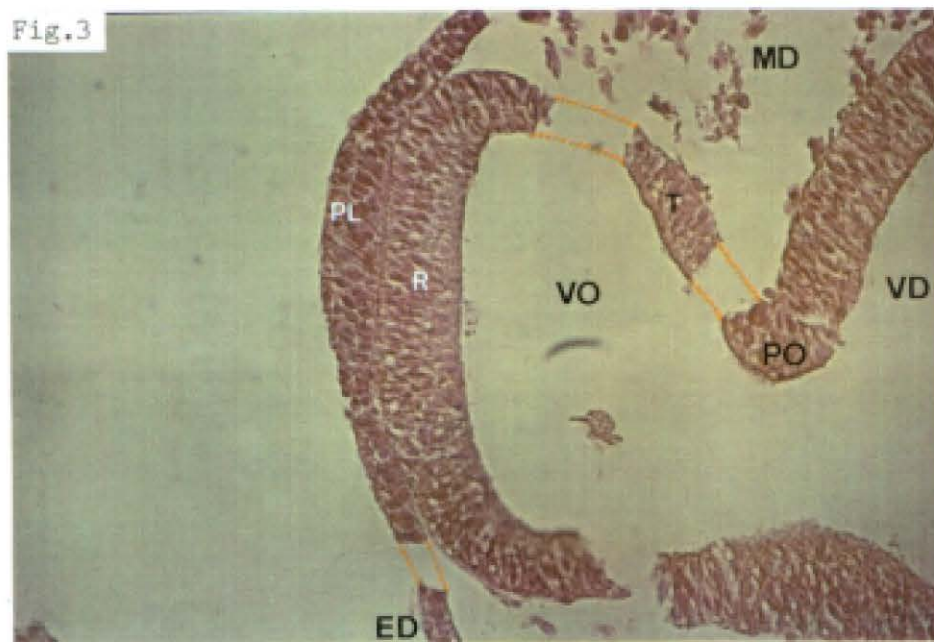
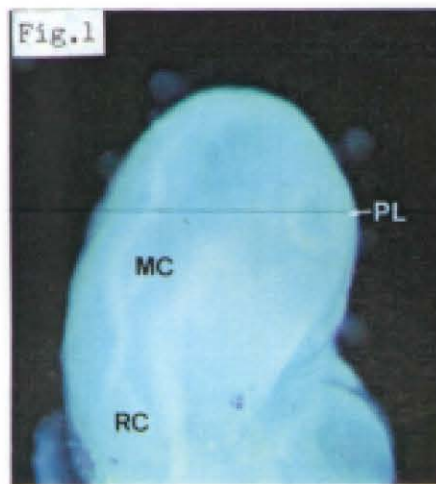
Los pedículos ópticos disminuyen de diámetro, pero aún conservan la luz en su interior. (figura 3)

ESTADIO 11: EMBRION CT-21

Fig.1: Visión dorso-lateral derecha, donde observamos la placoda cristaliniana como una zona de mayor densidad del ectodermo que está unido a la vesícula óptica. (4x)

Fig.2: Visión ventral. Vemos como los extremos laterales de las vesículas ópticas están aplanados. El esbozo cardíaco continúa su desarrollo. (4x)

Fig.3: Corte horizontal que permite observar con detalle la vesícula óptica y la placoda cristaliniana, así como la luz del pedículo óptico. (HC, 40x)



ESTADIO 12

ESTADIO 12

Estadio 12: 22 pares de somitos.

40-42 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-29: 22 pares de somitos.

48 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

La flexión ventral de la cabeza forma un ángulo de casi 90° con el tronco.

El ventrículo cardiaco se ha desplazado en dirección caudal, por lo que la aurícula cardiaca se sitúa por encima de él.

Observamos una abertura latero-dorsal a nivel de la flexión, que corresponde a la vesícula ótica.

En el centro de la vesícula óptica vemos una condensación del ectodermo que corresponde a la fosa cristaliniana. A nivel dorso-caudal comienza a delimitarse la fisura óptica. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Observamos que en el centro de la vesícula óptica se inicia la invaginación conjunta de su pared distal y de la placoda cristaliniana. A ese nivel existe una relación íntima entre ambas estructuras. Hablamos ya de vesícula óptica secundaria y de fosa cristaliniana.

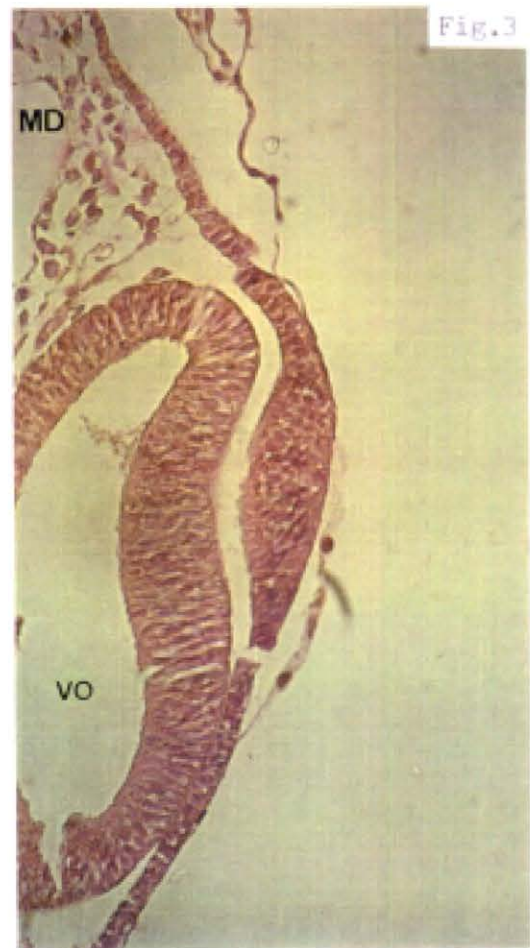
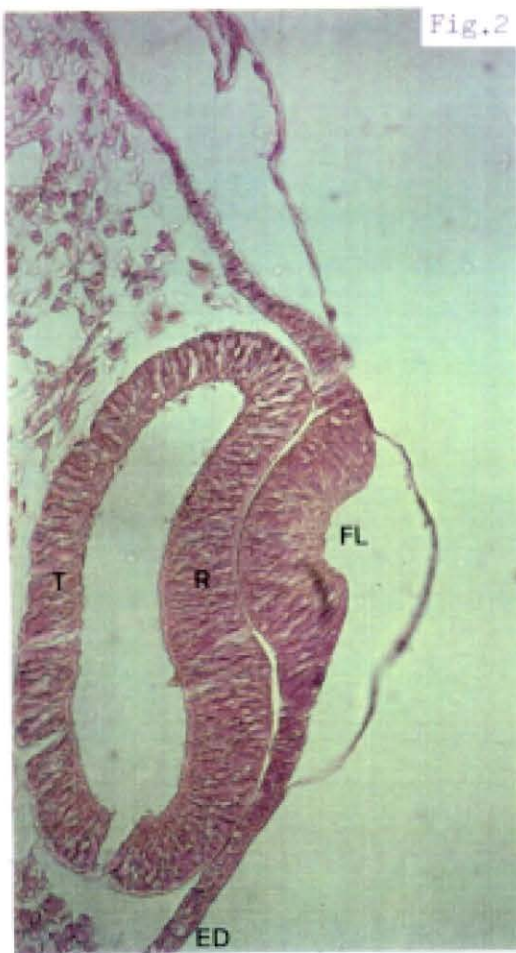
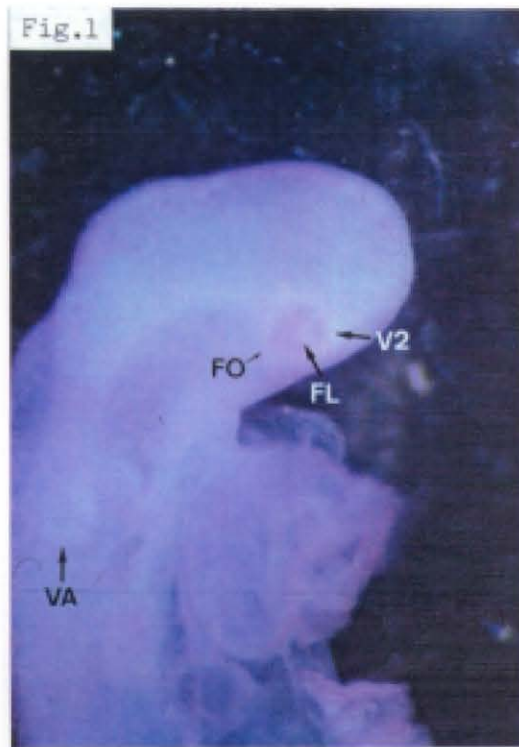
La pared distal de la vesícula óptica incrementa su espesor en relación con la pared proximal. (figuras 2 y 3)

ESTADIO 12: EMBRION CT-29

Fig.1: Visión lateral derecha. Se observa la inclinación ventral de la cabeza y en el centro de la vesícula óptica destaca la fosa cristaliniana, más densa que el resto del ectodermo. (4x)

Fig.2: Corte frontal oblicuo que coincide con el eje de invaginación de la pared distal de la vesícula óptica y de la fosa cristaliniana. (HC, 40x)

Fig.3: Corte frontal oblicuo a nivel del borde de la fosa cristaliniana. (HC, 40x)



ESTADIO 13

ESTADIO 13

Estadio 13: 24-26 pares de somitos.

44-46 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-33: 24 pares de somitos.

50 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Los ejes del tronco y de la cabeza forman un ángulo agudo.

El esbozo cardiaco se encuentra dentro del embrión.

La abertura dorsal de la vesícula óptica apenas es visible; craneal a esta vesícula se distingue el núcleo del trigémino.

En el contorno de la cabeza destacan las vesículas telencefálicas y el tectum óptico.

Vemos como la vesícula óptica engloba a la fosa cristaliniana que presenta menor densidad en su centro.

La fisura óptica permanece abierta. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Destaca el gran desarrollo de la pared distal de la vesícula óptica que triplica en espesor a la pared proximal.

Disminuye de forma importante el volumen del ventrículo óptico debido al acercamiento de las paredes de la vesícula óptica.

La fosa cristaliniana se sigue invaginando y comienza a ocultarse debajo del ectodermo superficial de donde deriva.

En el interior de la fosa cristaliniana se observan acúmulos de detritus celulares.

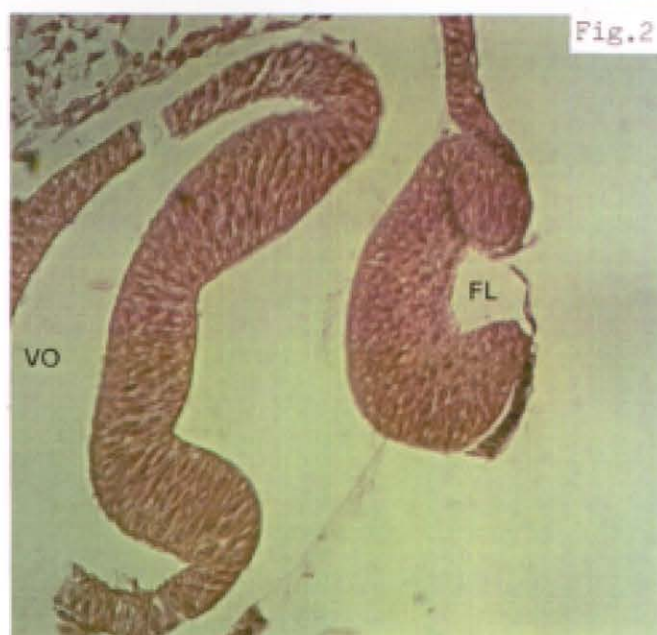
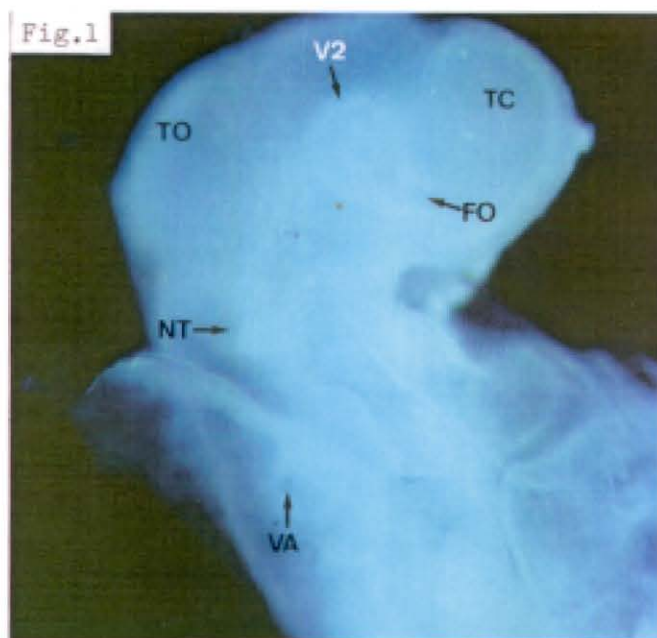
Aunque aparece exagerado por el proceso histológico, la fosa cristaliniana y la vesícula óptica comienzan a separarse, por lo que existe un espacio ópticamente vacío entre ambas. (figuras 2 y 3)

ESTADIO 13: EMBRION CT-33

Fig.1: Visión lateral derecha. La vesícula óptica engloba a la fosa cristaliniana. Se aprecia la fisura óptica. (4x)

Fig.2: Corte horizontal que coincide con el eje de la vesícula óptica. Observamos como los bordes de la fosa cristaliniana tienden a aproximarse. (HC, 40x)

Fig.3: Corte horizontal del embrión (parasagital en relación a la vesícula óptica), que muestra los detritus celulares (flecha) en el interior de la fosa cristaliniana. (HC, 40x)



ESTADIO 14

ESTADIO 14

Estadio 14: 26-32 pares de somitos.

50-58 horas de incubación.

Ejemplos: Embrión CT-39: 27 pares de somitos.

56 horas de incubación.

Embrión CT-36: 32 pares de somitos.

60 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En ambos embriones la flexión ventral de la cabeza es máxima. (figuras 1 y 2)

Debido a la posición del embrión CT-39 (figura 1) podemos observar ambas vesículas óticas, la izquierda por transparencia.

Vemos que los bordes de la fisura óptica contactan en la zona media del pedículo, mientras que permanecen separadas en dirección proximal y distal. (figura 1)

En el embrión CT-36 (figura 2) distinguimos el núcleo del trigémino, dorsal a la vesícula óptica. La vesícula óptica engloba a la vesícula cristaliniana que presenta una zona central de menor densidad. Los bordes de la fisura óptica se van acercando en dirección distal.

En ambos embriones destaca el desarrollo de las vesículas telencefálicas y tectum óptico y comienza a verse el esbozo del cerebelo. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Existe una diferencia entre ambos embriones en cuanto al momento evolutivo en que se encuentra el esbozo del cristalino. En el embrión de 27 pares de somitos (CT-39) (figuras 3 y 4), vemos que los bordes aún no se han fusionado por lo que hablamos de fosa cristaliniana. Por el contrario en el otro embrión de 32 pares de somitos (CT-36) (figuras 5 y 6), los bordes se están fusionando y hablamos ya de vesícula cristaliniana. Todavía se observa el pedículo de unión residual de la vesícula cristaliniana con el ectodermo que lo recubre. En el interior aparecen detritus celulares.

Entre la pared proximal de la fosa cristaliniana y la capa interna de la vesícula óptica observamos algunas fibras que identificamos como el primer esbozo del vítreo. (figuras 3 y 4)

En relación a la vesícula óptica, no existen diferencias entre ambos embriones. La pared distal pasa a ser capa interna y conserva e incrementa su grosor en relación a la pared proximal que pasa a ser capa externa.

El ventrículo óptico aparece como una franja ópticamente vacía entre ambas capas de la vesícula óptica que aún se comunica con el ventrículo diencefálico a través de la luz del pedículo óptico.

La pared proximal de la vesícula cristaliniana comienza a desarrollarse y ya es algo más gruesa que la pared distal. (figuras 3 a 6)

ESTADIO 14: EMBRIONES CT-39 y CT-36

Fig.1: Visión lateral derecha del embrión CT-39 donde vemos que los bordes de la fisura óptica contactan sólo en la zona media. (2,5x)

Fig.2: Visión lateral derecha del embrión CT-36. Observamos que ha aumentado en dirección distal la zona de contacto de los bordes de la fisura óptica. (4x)

Fig.3: Corte frontal del embrión CT-39, coincidiendo con el eje de la vesícula óptica, en el que vemos que los bordes de la fosa cristaliniana aún no están en contacto. (HC, 20x)

Fig.4: Detalle que permite apreciar las diferencias entre ambas capas de la vesícula óptica. Entre la fosa cristaliniana y la vesícula óptica observamos el primer esbozo del vítreo (flecha) (HC, 40x)

Fig.5: Corte horizontal oblicuo del embrión CT-36. Observamos que los bordes de la vesícula cristaliniana se han fusionado. (HC, 20x)

Fig.6: Detalle de la vesícula cristaliniana donde podemos distinguir el pedículo de unión de la vesícula cristaliniana y el ectodermo superficial. Se aprecian algunos acúmulos de detritus celulares (flechas) en el interior de la vesícula. (HC, 40x)

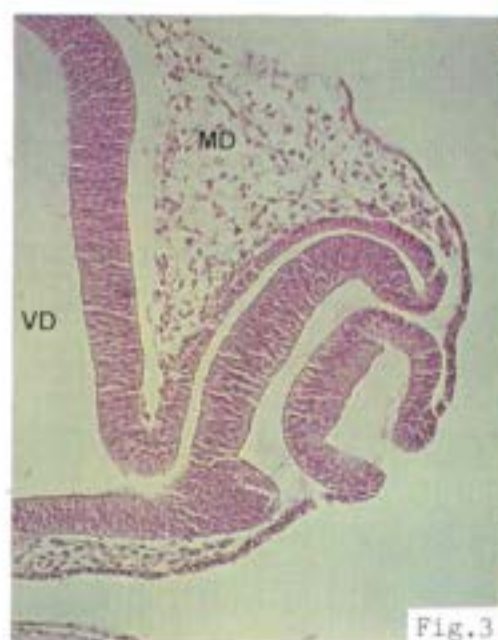
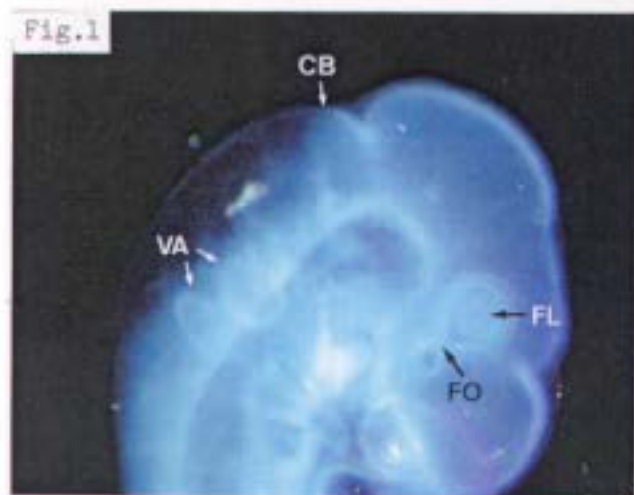


Fig.3



Fig.4

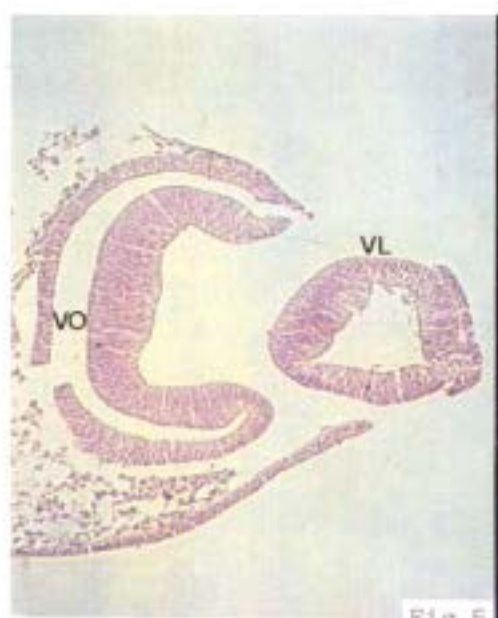


Fig.5

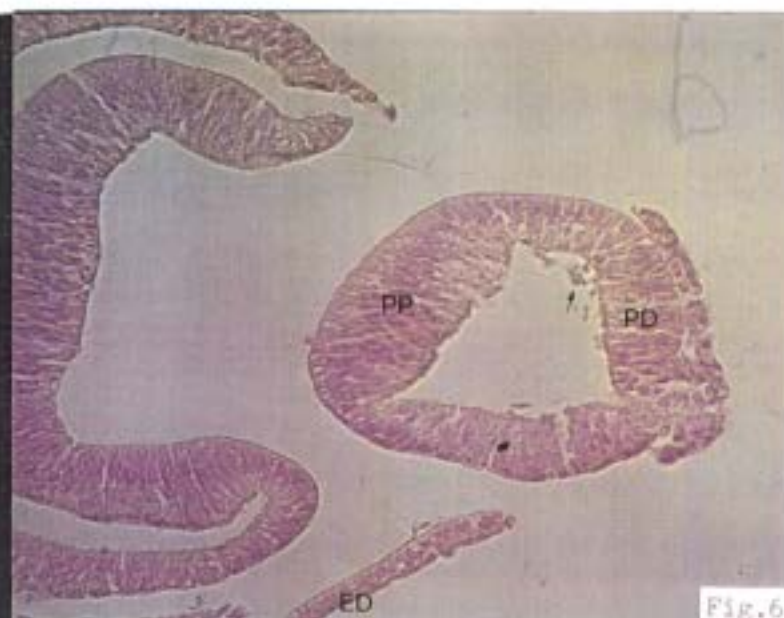


Fig.6

ESTADIO 15

ESTADIO 15

Estadio 15: 36-40 pares de somitos.

62-68 horas de incubación.

Ejemplos: Embrión CT-41: 36 pares de somitos.

67 horas de incubación.

Embrión CT-44: 40 pares de somitos.

72 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO: (CT-44)

En el tronco se observan los esbozos de los miembros superiores e inferiores. (figura 1)

Vemos que craneal a la vesícula óptica se encuentra el núcleo del VII y VIII pares craneales y dorsal a la vesícula óptica el núcleo del trigémino

En el contorno de la cabeza del embrión (de dorsal a ventral) destacan el cerebelo, tectum óptico, primer esbozo de la epífisis y vesículas telencefálicas.

En relación a la fisura óptica solamente podemos observar que los bordes del extremo distal están en contacto, pero aún no se han fusionado.

La vesícula cristaliniana, dentro de la vesícula óptica, se encuentra ligeramente desplazada caudalmente. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En ambos embriones aún se pueden observar zonas de contacto entre el ectodermo superficial y la vesícula cristaliniana. (figuras 3 y 5)

El ectodermo que recubre la vesícula cristaliniana tiene dos capas celulares. (figura 4)

Las capas de la vesícula óptica comienzan a contactar, pero todavía podemos observar el ventrículo óptico y su comunicación con el ventrículo diencefálico a través de la luz del pedículo óptico. (figuras 3 y 6)

La capa interna de la vesícula óptica es mucho más gruesa que la capa externa. Esta diferencia es menos marcada en los bordes de la vesícula. (figura 6)

En la vesícula cristaliniana, las paredes también tienen diferentes grosores. En la pared proximal las células comienzan a alargarse, aumentando de grosor en relación a la pared distal. (figuras 3 y 5)

El mesodermo que rodea a la vesícula óptica, se extiende justo hasta su borde, sin sobrepasarlo. (figuras 3 y 6)

ESTADIO 15: EMBRIONES CT-41 y CT-44

Fig.1: Visión lateral derecha del embrión CT-44 donde observamos el esbozo del miembro superior, los núcleos de los pares craneales V, VII y VIII y las vesículas óptica y ótica. (2,5x)

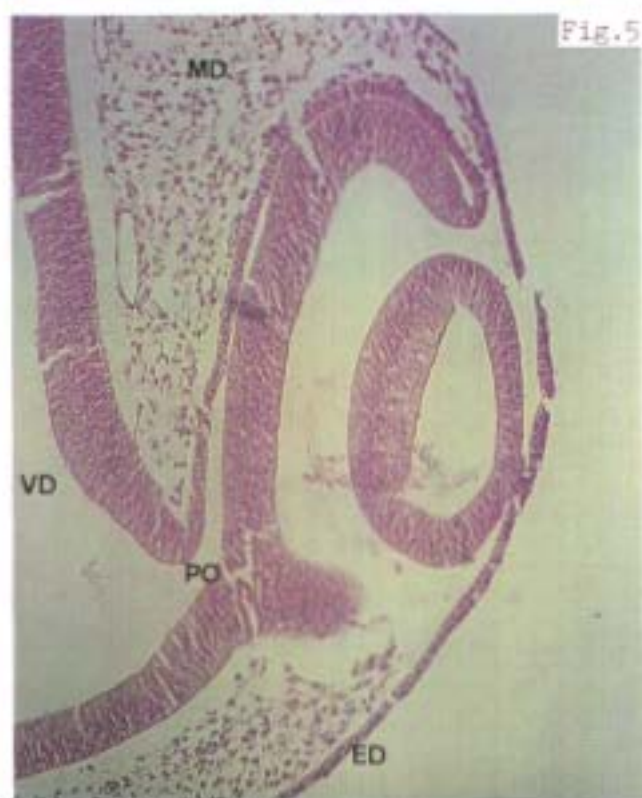
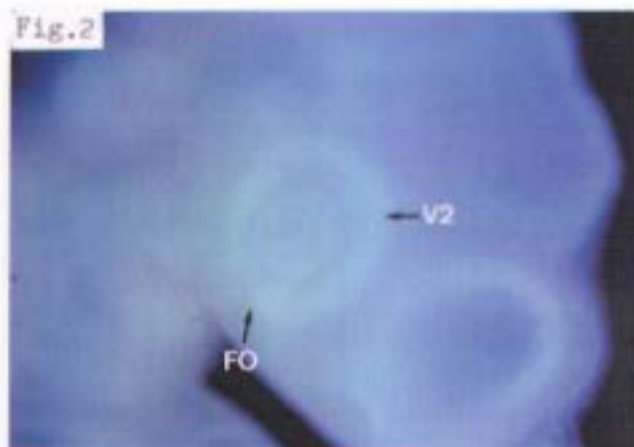
Fig.2: Detalle de las vesículas óptica y cristaliniana. (4x)

Fig.3: Corte horizontal oblicuo del embrión CT-44, donde vemos que la vesícula cristaliniana está todavía en contacto con el ectodermo. (HC, 10x)

Fig.4: Detalle de la vesícula cristaliniana del embrión CT-44 en el que se observa la elongación de las células de la pared proximal. (HC, 40x)

Fig.5: Corte frontal del embrión CT-41 que permite ver la situación del ventrículo óptico. (HC, 20x)

Fig.6: Detalle del borde de la vesícula óptica del embrión CT-41, donde observamos que a ese nivel la diferencia de grosor entre ambas capas es menos significativa. El mesodermo que rodea a la vesícula óptica se extiende hasta su borde, sin sobrepasarlo. (HC, 40x)



ESTADIO 16

ESTADIO 16

Estadio 16: 72 horas de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-46: 76 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En la cabeza, el tectum óptico comienza a destacar del resto de estructuras encefálicas. La epífisis se encuentra entre el tectum óptico y las vesículas telencefálicas y es más evidente que en estadios anteriores.

El proceso maxilar, que se extiende hacia la mitad de la vesícula óptica, duplica casi en longitud al proceso mandibular.

El 2º y 3º arcos branquiales son claramente visibles en la parte anterior del cuello.

La vesícula óptica comienza a pigmentarse. Este hecho se pone de manifiesto por dos detalles; en primer lugar vemos que la vesícula cristaliniana tiene un color blanco que destaca del tejido que le rodea; y en segundo lugar el contorno dorsal y craneal de la vesícula óptica presenta un tono oscuro debido al efecto aposición. Si nos fijamos con detenimiento en este último detalle podemos ver un halo oscuro en la superficie externa de la vesícula óptica. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

La pared proximal de la vesícula cristaliniana, debido al proceso de elongación de sus células, ha crecido hasta contactar con la pared distal. A pesar de ello, vemos como queda un anillo localizado en la periferia y que corresponde a

la cámara cristaliniana

Los núcleos de las células elongadas, normalmente se sitúan en el centro de las células, adoptando forma de "media luna". (figuras 3 y 4)

En el espesor del ectodermo que recubre el cristalino existen dos capas de células. (figuras 4 y 6)

El mesodermo que rodea la vesícula óptica contiene vasos de gran calibre (figura 5) y no sobrepasa los bordes de ésta, por lo que entre la vesícula cristaliniana y el ectodermo superficial queda un espacio ópticamente vacío. (figuras 3, 4 y 6)

Los bordes de la vesícula óptica llegan hasta el ecuador del cristalino, sobrepasándolo ligeramente. (figuras 3 y 4)

Aunque ambas capas de la vesícula óptica están en contacto, aún quedan algunas zonas, como en los bordes, en las que se mantienen separadas. (figuras 3, 5 y 6)

En algunas zonas de la capa externa de la vesícula óptica (futuro epitelio pigmentado) se ven los primeros acúmulos de pigmento. Estas zonas pigmentadas coinciden con las de menor grosor de la capa externa. (figuras 3 y 5)

La capa interna de la vesícula óptica (futura retina) presenta una morfología semejante en toda su extensión, salvo a nivel de los bordes en los que disminuye de espesor. (figuras 3, 5 y 6)

ESTADIO 16: EMBRION CT-46

Fig.1: Visión lateral izquierda donde vemos el I, II y III arcos branquiales. (1,5x)

Fig.2: Detalle de la cabeza en la que destaca el desarrollo del tectum óptico y de la vesícula óptica y donde observamos además el cerebelo, la epifisis y el telencéfalo. Las flechas señalan el halo oscuro en la superficie externa de la vesícula óptica. (2x)

Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra todas las estructuras de la vesícula óptica. (HC, 10x)

Fig.4: Detalle del cristalino donde vemos la elongación de las células de la pared proximal que han ocluido casi totalmente la luz, pues todavía se observa la cámara cristaliniana (flechas). (HC, 40x)

Fig.5: Detalle de la zona central de la vesícula óptica que muestra como en algunos puntos la capa externa comienza a pigmentarse. (HC, 40x)

Fig.6: Detalle del borde de la vesícula óptica; observamos que el mesodermo no sobrepasa sus límites. (HC, 40x)

Fig.7: Detalle del borde de la vesícula óptica donde se observa el mesodermo.

Fig.8: Detalle del borde de la vesícula óptica donde se observa el mesodermo.

Fig.9: Detalle del borde de la vesícula óptica.

Fig.10

Fig.1

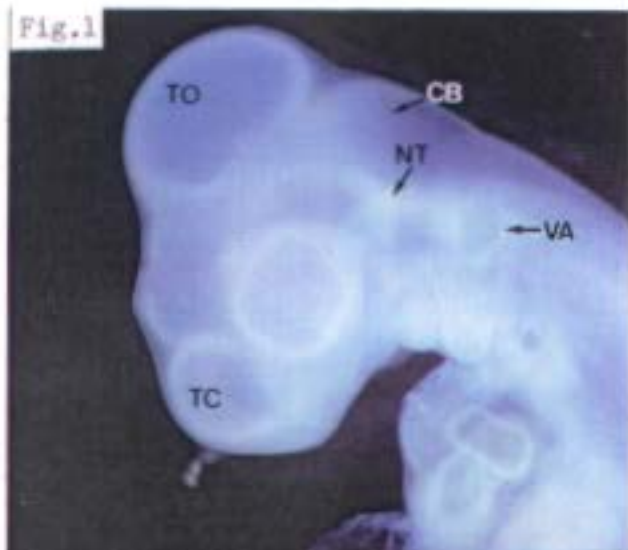


Fig.2

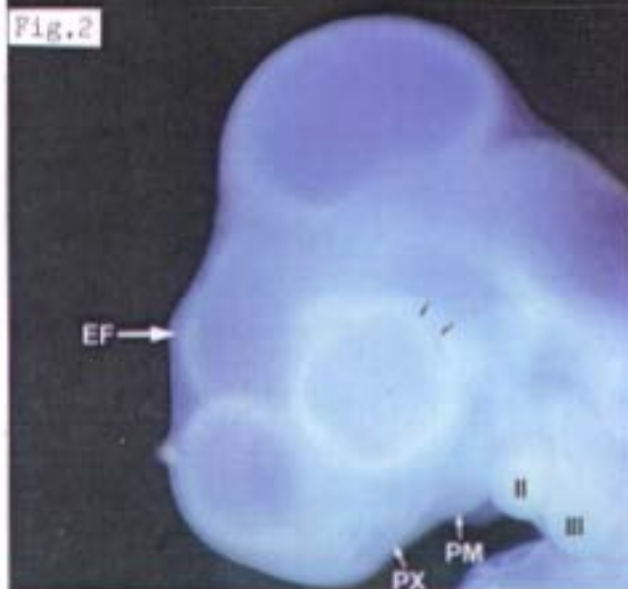


Fig.3



Fig.4

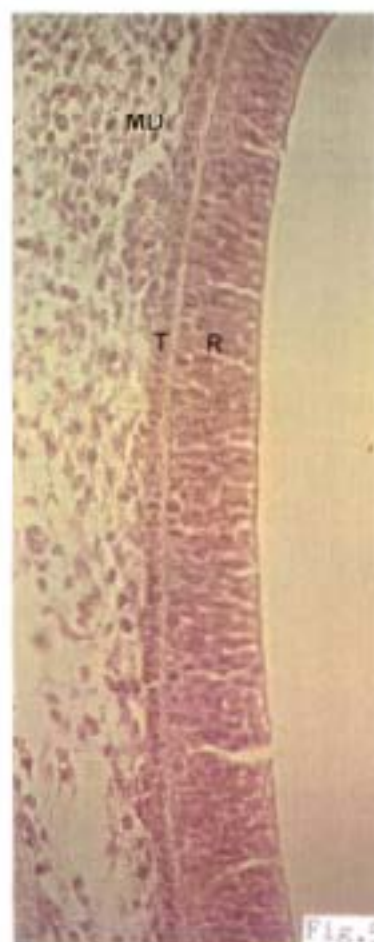


Fig.5



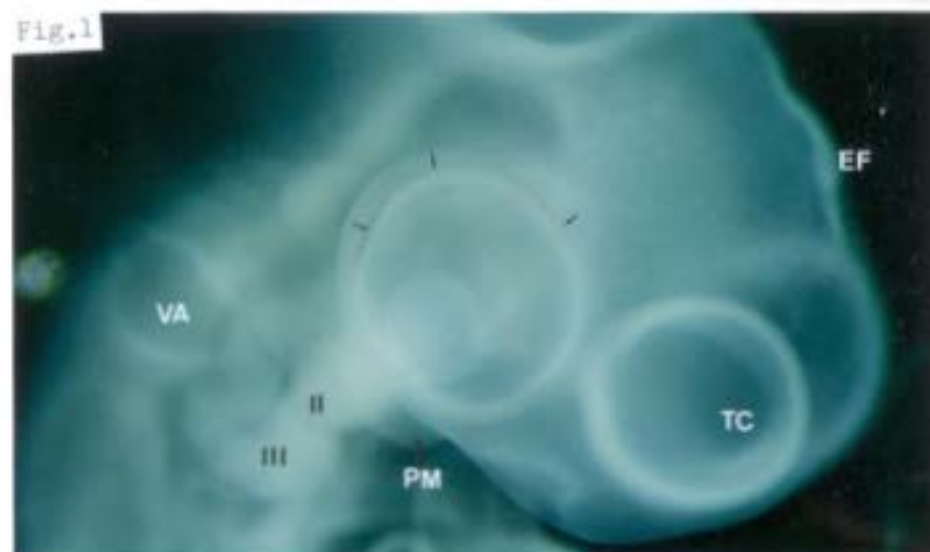
Fig.6

ESTADIO 17

ESTADIO 17: EMBRION CT-52

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza en la que destaca la pigmentación del contorno de la vesícula óptica (flechas). (4x)

Fig.1



ESTADIO 17

Estadio 17: 3 días y medio de incubación

Ejemplo: Embrión CT-52: 3 días y 10 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Los esbozos de los miembros comienzan a ser más largos que anchos.

Se distingue claramente la epífisis situada en la línea media entre el tectum óptico y las vesículas telencefálicas.

En relación a la vesícula óptica, el proceso mandibular y los arcos branquiales 2º y 3º se sitúan caudales y el núcleo del trigémino dorsal.

Vemos que la vesícula óptica es más grande que las vesículas telencefálicas.

El cristalino está perfectamente delimitado en el interior de la vesícula óptica.

Como ocurría en el estadio anterior, aunque aquí es mucho más evidente, la pigmentación de la capa externa de la vesícula óptica se observa con nitidez por el efecto aposición y delimita su contorno. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El mesodermo que rodea la vesícula óptica comienza a sobrepasar los bordes de ésta y se introduce entre el ectodermo superficial y el epitelio anterior del cristalino. Este fenómeno, que tiene lugar de la periferia al centro, se denomina primera oleada mesodérmica y es el origen del endotelio corneal. (figuras 2 a 4)

La cámara cristaliniana ha desaparecido, ya que la pared proximal se ha fusionado completamente a la pared distal, que a partir de ahora llamaremos epitelio anterior del cristalino. Los núcleos celulares de la pared proximal mantienen la disposición en forma de "media luna" que observábamos en estadios anteriores. (figuras 2 y 3)

A lo largo de la línea de cierre de la fisura óptica observamos el primer esbozo del pecten como un grupo de células que acompañan a la arteria *cupulae retinae* y que hacen relieve en el interior de la vesícula óptica. (figura 5)

En las células de la capa externa de la vesícula óptica (epitelio pigmentado) se pueden identificar claramente granos de pigmento. Normalmente la pigmentación tiene su origen en la zona central, donde la capa es más fina, y se extiende hacia los bordes de la vesícula. (figuras 2 y 8)

El espesor de la capa externa de la vesícula óptica es semejante a lo largo de toda la circunferencia, aunque en algunos embriones hemos observado que en los bordes se engruesa ligeramente. (figuras 2 y 4 a 8)

La capa interna de la vesícula óptica aunque claramente más gruesa, también presenta un espesor uniforme en toda su extensión, salvo en los bordes que se adelgaza ligeramente. En la superficie interna de esta capa se observa un límite uniforme que corresponde a la limitante interna. (figuras 2 y 4 a 8)

En el espesor de la capa interna (retina neurosensorial) no se puede definir una ordenación concreta en capas. (figura 8)

ESTADIO 17: EMBRION CT-52

Fig.2: Corte frontal donde observamos todas las estructuras que integran la vesícula óptica. (HC, 10x)

Fig.3: Detalle del cristalino en el que han desaparecido los restos de la cámara cristaliniana, al fusionarse la pared proximal con la distal. (HC, 40x)

Fig.4: Detalle de la primera oleada mesodérmica que comienza a introducirse entre el cristalino y el ectodermo. (HC, 40x)

Fig.5: Corte a nivel de la fisura óptica donde vemos el primer esbozo del pecten con la arteria *cupulae retinae* (flecha). (HC, 40x)

Fig.6: Detalle de la pared de la vesícula óptica entre la zona central y la periferia. En la capa externa no observamos indicios de pigmentación. (HC, 40x)

Fig.7:..Detalle del borde de la vesícula óptica. (HC, 40x)

Fig.8: Detalle de la pared de la vesícula óptica en la zona central. Además de la gran diferencia de grosor, en la capa externa destaca la presencia de pigmento. (HC, 40x)



Fig.2



Fig.3

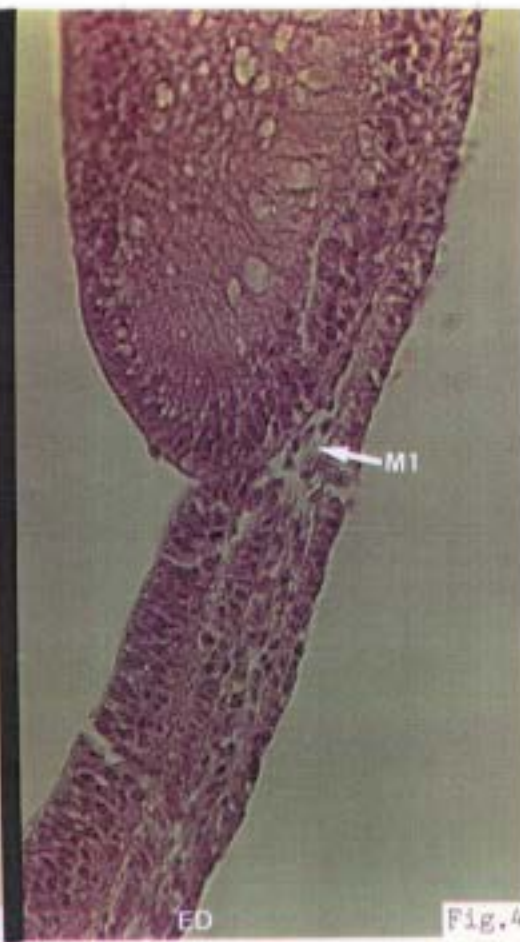


Fig.4

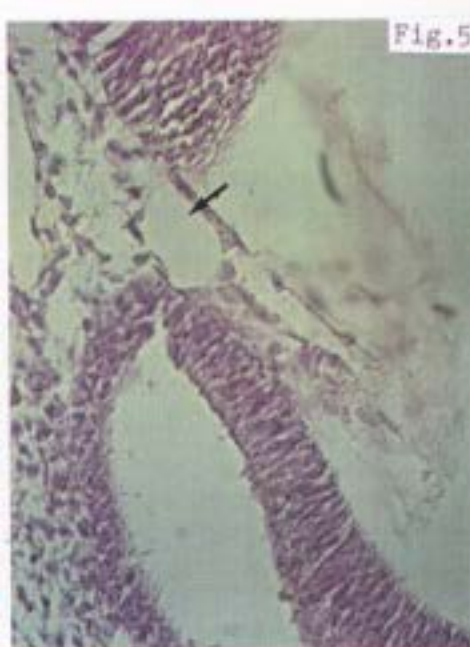


Fig.5



Fig.6



Fig.7

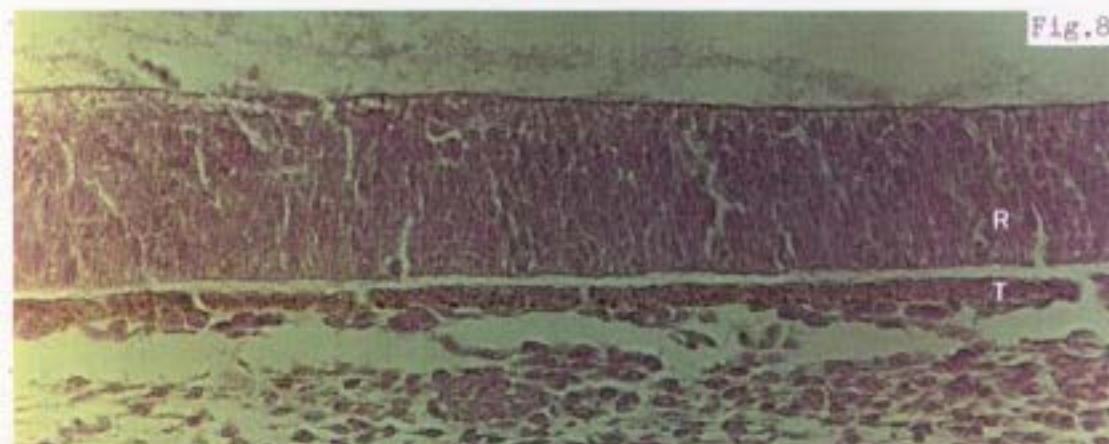
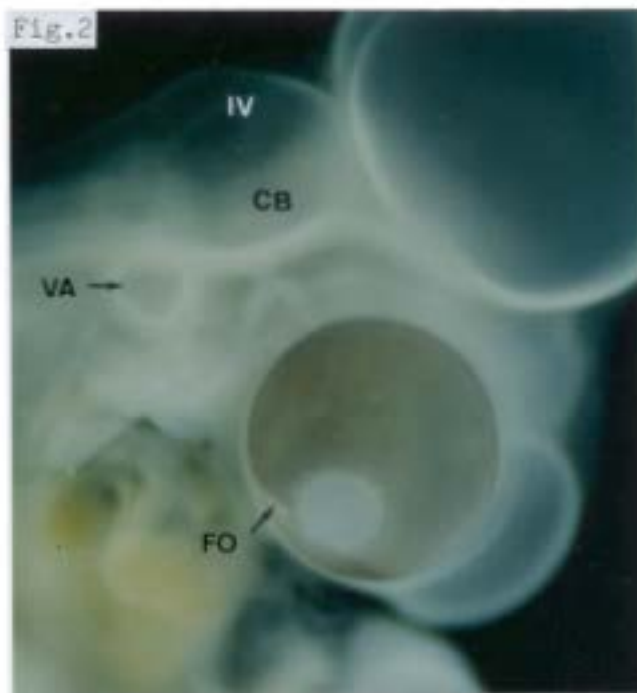


Fig.8

ESTADIO 18

1. El estudiante debe ser capaz de identificar y describir los principales componentes de un sistema de gestión de la calidad (SGC) y su relación con el ciclo de vida del producto.	1.1. El estudiante debe ser capaz de identificar y describir los principales componentes de un SGC.	1.1.1. El estudiante debe ser capaz de identificar y describir los principales componentes de un SGC.
2. El estudiante debe ser capaz de aplicar los principios de la gestión de la calidad a un caso práctico.	2.1. El estudiante debe ser capaz de aplicar los principios de la gestión de la calidad a un caso práctico.	2.1.1. El estudiante debe ser capaz de aplicar los principios de la gestión de la calidad a un caso práctico.
3. El estudiante debe ser capaz de diseñar un plan de gestión de la calidad para un producto o servicio.	3.1. El estudiante debe ser capaz de diseñar un plan de gestión de la calidad para un producto o servicio.	3.1.1. El estudiante debe ser capaz de diseñar un plan de gestión de la calidad para un producto o servicio.
4. El estudiante debe ser capaz de evaluar el desempeño de un sistema de gestión de la calidad.	4.1. El estudiante debe ser capaz de evaluar el desempeño de un sistema de gestión de la calidad.	4.1.1. El estudiante debe ser capaz de evaluar el desempeño de un sistema de gestión de la calidad.



ESTADIO 18: EMBRION CT-58

Fig.1: Visión fronto-lateral derecha. En la cabeza destaca la pigmentación del globo ocular, la epífisis, las vesículas telencefálicas y el gran tamaño del tectum óptico. (1,4x)

Fig.2: Visión lateral derecha. Se observa con detalle el globo ocular. (1,8x)

ESTADIO 18

Estadio 18: 4 días de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-58: 4 días y 6 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En los miembros, girados en dirección caudal, aparecen los pliegues del codo y rodilla y comienza a diferenciarse la lámina digital. (figura 1)

En la cabeza destacan los globos oculares por su tamaño y por su evidente pigmentación y el tectum óptico por el gran desarrollo que alcanza.

En el extremo más anterior vemos las vesículas telencefálicas y entre ellas y el tectum óptico, la epífisis haciendo relieve. En la parte posterior observamos el cerebelo y el IV ventrículo.

Las vesículas óticas se localizan dorso-caudales con relación a los globos oculares.

El cristalino se hace mucho más evidente sobre el fondo pigmentado. Lo mismo ocurre con la fisura óptica que se extiende desde el borde de la vesícula óptica hasta su límite posterior. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El mesodermo que rodea al epitelio pigmentado comienza a condensarse en algunas zonas. (figura 3)

Las células de la primera oleada mesodérmica se sitúan formando una hilera por debajo del epitelio, constituyendo el esbozo del endotelio corneal. Entre el epitelio y el endotelio apreciamos un espacio, ópticamente vacío, que corresponde al estrato acelular de la córnea. (figuras 3 a 5)

Podemos delimitar el esbozo de la cámara anterior. Su límite externo es el endotelio corneal; el interno, el epitelio anterior del cristalino y el lateral, el borde de la vesícula óptica con el mesodermo circundante. (figuras 3 a 5)

El cristalino presenta una morfología globulosa, casi esférica. Las células de la pared proximal, constituyen las fibras primarias del cristalino. (figuras 3 y 4)

En la fisura óptica vemos que el esbozo del pecten penetra ligeramente en el globo ocular. En su interior observamos la presencia de la arteria *cupulae retinae*. (figura 7)

La capa externa de la vesícula óptica aparece completamente pigmentada. En los bordes, la pigmentación es muy tenue y los granos de pigmento parecen tener una cierta orientación, ya que se sitúan de forma preferente en el polo de la célula más cercano a la capa interna; por el contrario en la zona central se sitúan en la superficie externa. (figuras 4 a 8)

La retina disminuye de espesor en los bordes. Aunque aún no puede hablarse de ordenación en capas, en la superficie interna existe una pequeña franja acelular que podría corresponder a la capa de fibras ópticas. (figuras 5 a 8)

ESTADIO 18: EMBRION CT-58

Fig.3: Corte horizontal oblicuo en el que pueden verse todas las estructuras del globo ocular y la condensación del mesodermo que lo rodea (flechas). (HC, 4x)

Fig.4: Corte del segmento anterior donde observamos con detalle el esbozo de la cámara anterior con sus límites, córnea, cristalino y vesícula óptica. (HC, 20x)

Fig.5: Detalle de la perifería de la córnea y del borde de la vesícula óptica. (HC, 40x)

Fig.6: Detalle del borde de la vesícula óptica que nos permite ver la disposición de los granos de pigmento en el interior de las células. (HC, 40x)

Fig.7: Corte a nivel de la fisura óptica. Detalle del pecten con la arteria *cupulae retinae* (flecha). (HC, 40x)

Fig.8: Detalle del epitelio pigmentado y retina a nivel central. En la superficie interna de la retina se distingue la capa de fibras ópticas. (HC, 40x)

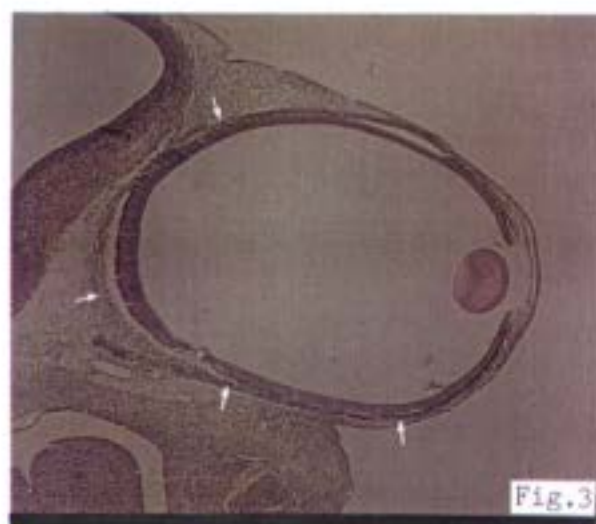


Fig.3

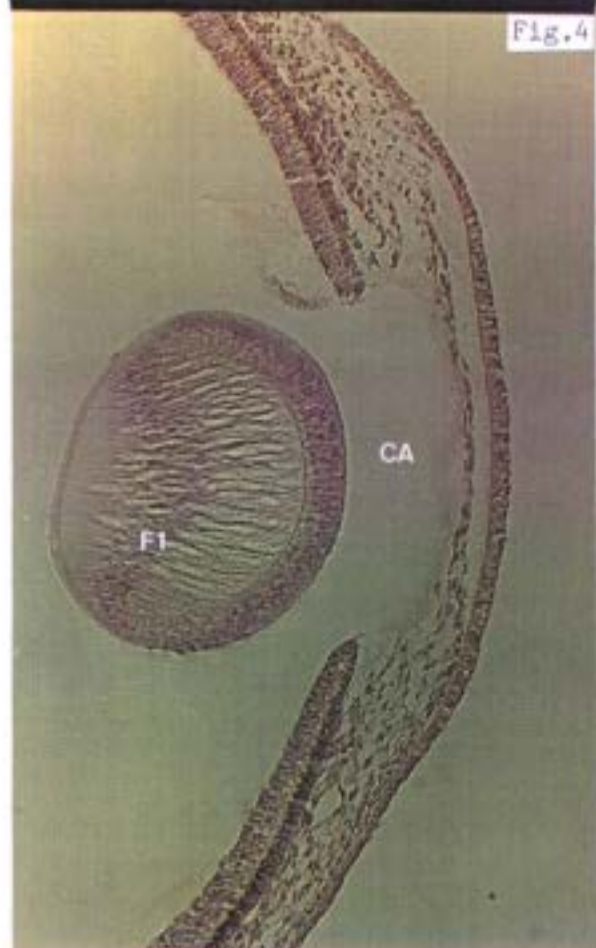


Fig.4

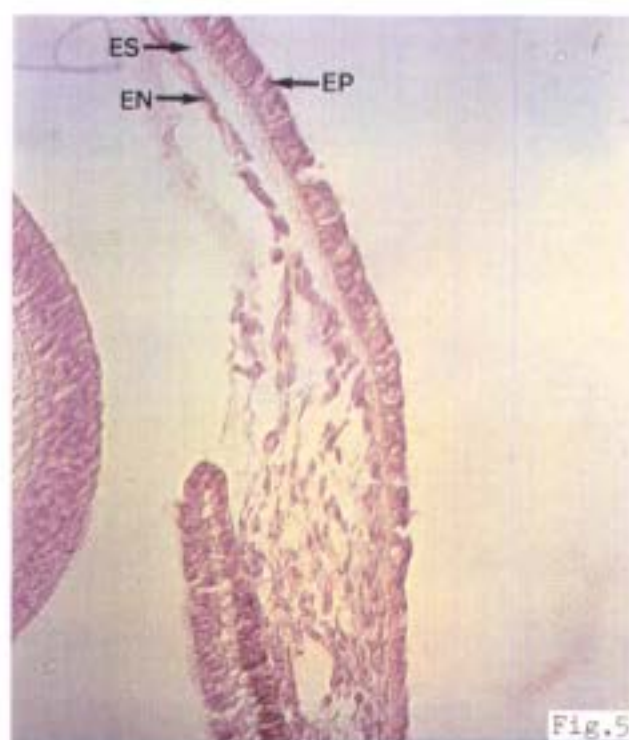


Fig.5



Fig.6



Fig.7

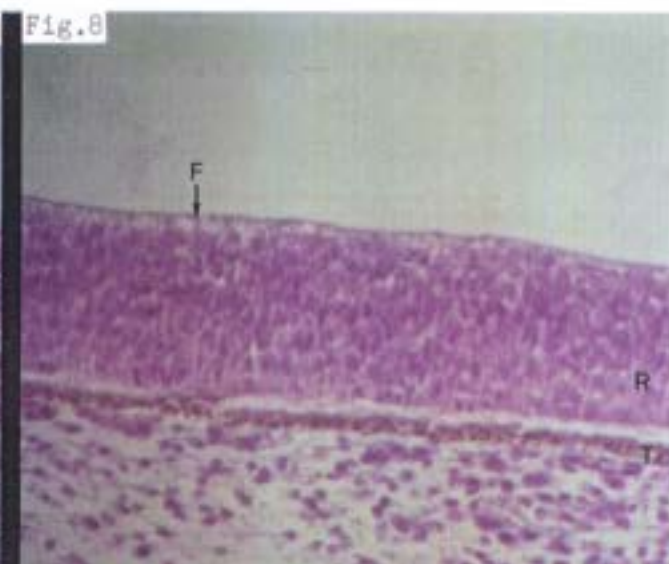


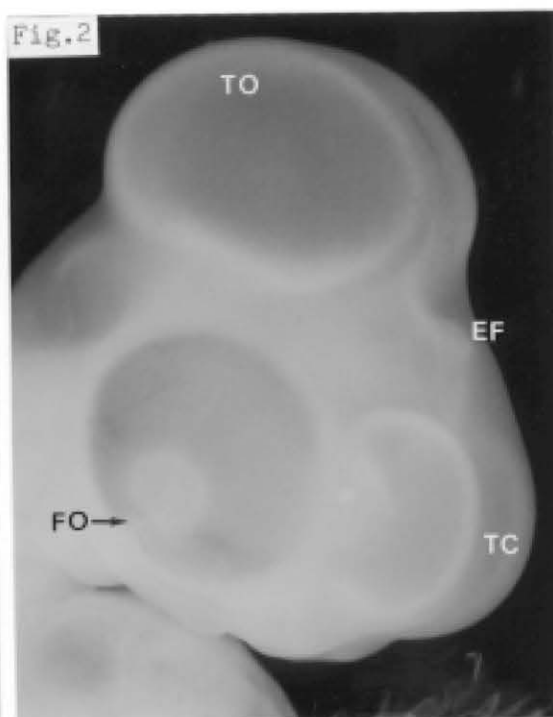
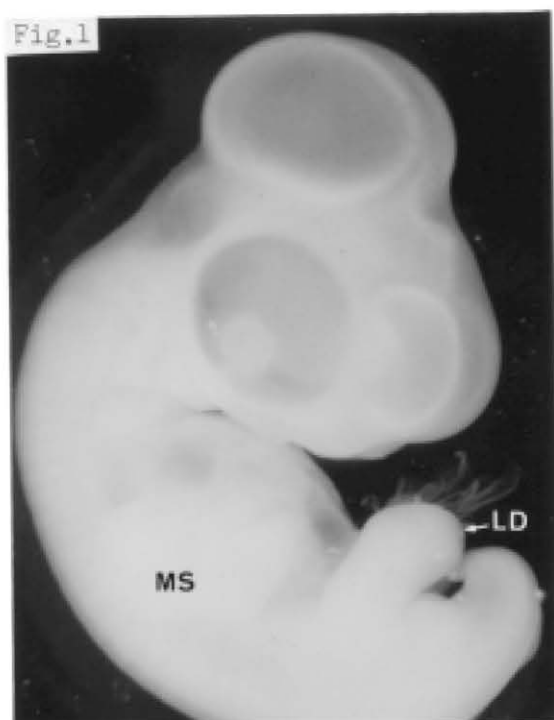
Fig.8

ESTADIO 19

ESTADIO 19: EMBRION CT-61

Fig.1: Visión ventro-lateral derecha donde podemos observar la epifisis y el gran desarrollo del tectum óptico. (1x)

Fig.2: Detalle de la cabeza. Vemos la pequeña escotadura que la fisura óptica provoca en el orificio pupilar. (1,5x)



ESTADIO 19:

Estadio 19: 4 días y medio de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-61: 4 días y medio de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Las extremidades se han alargado y en la lámina digital se observan pequeñas depresiones que separan los dedos. (figura 1)

El orificio del conducto auditivo externo aparece como una pequeña fisura.

El tectum óptico es la estructura nerviosa más voluminosa de la cabeza. Las vesículas telencefálicas conservan un tamaño similar a estadios anteriores, aunque más pequeñas debido al crecimiento de la cabeza. La epífisis es claramente visible entre el tectum óptico y las vesículas telencefálicas.

Los globos oculares presentan una pigmentación más intensa.

La fisura óptica origina una pequeña escotadura en el orificio pupilar. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En la condensación mesodérmica que rodea el epitelio pigmentado se observan zonas de mayor densidad, vasos sanguíneos y filetes nerviosos. (figuras 3, 6 y 8)

El cristalino con una morfología ovoide está ocupado en casi su totalidad por las fibras primarias. Los núcleos celulares son difíciles de identificar con esta tinción. En el epitelio anterior existen dos zonas con diferentes morfologías. Así las regiones ecuatorial y preecuatorial son más gruesas y sus células captan con mayor intensidad al colorante (mayor actividad metabólica, mitosis); sin embargo, en la región central es más delgada y sus células muestran una coloración pálida. (figuras 3 y 4)

En la córnea observamos tres capas, la interna que tiene una sola hilera de células planas (endotelio), la externa más ancha y poliestratificada (epitelio) y entre ambas se sitúa el estrato acelular. (figuras 4 y 5)

La cámara anterior aparece ópticamente vacía, aunque a nivel periférico está parcialmente ocupada por tejido que surge a partir del mesódermo situado en los bordes de la vesícula óptica. (figuras 3 a 5)

En el neuroepitelio retiniano distinguimos con nitidez la capa de fibras ópticas (en la superficie interna) formada por los axones de las células ganglionares. Estas fibras abandonan el globo ocular por la zona más posterior de la fisura óptica, para formar el nervio óptico. (figuras 3 y 7)

En la mitad interna de la retina vemos mayor densidad de células, aunque no podemos distinguir todavía una clara estratificación. En los bordes de la vesícula óptica el neuroepitelio retiniano es más delgado, carece de capa de fibras ópticas y tiene menor número de células. (figuras 6 a 8)

El epitelio pigmentado (en la región central) presenta un color negro intenso, mientras que a nivel periférico (en los bordes) se ensancha y la pigmentación se localiza preferentemente en la superficie interna que está en contacto con la retina. (figuras 4 a 8)

ESTADIO 19: EMBRION CT-61

Fig.3: Corte horizontal oblicuo en el que se encuentran todas las estructuras del globo ocular y el esbozo del nervio óptico. (BB, 4x)

Fig.4: Detalle del segmento anterior, donde vemos la morfología del cristalino y los límites de la cámara anterior. (BB, 20x)

Fig.5: Corte periférico de la córnea. Observamos las capas de la córnea y el tejido mesodérmico que en ocasiones ocupa parte de la cámara anterior. (BB, 40x)

Fig.6: Detalle de la retina y epitelio pigmentado a nivel periférico, rodeados de tejido mesodérmico en el que destacan algunos fascículos nerviosos. (flecha). (BB, 40x)

Fig.7: Corte a nivel de la fisura óptica donde vemos la salida de los axones que van a formar el nervio óptico y el esbozo del pecten. (BB, 40x)

Fig.8: Detalle del neuroepitelio retiniano con su capa de fibras ópticas. (BB, 40x)

Fig.3



Fig.4

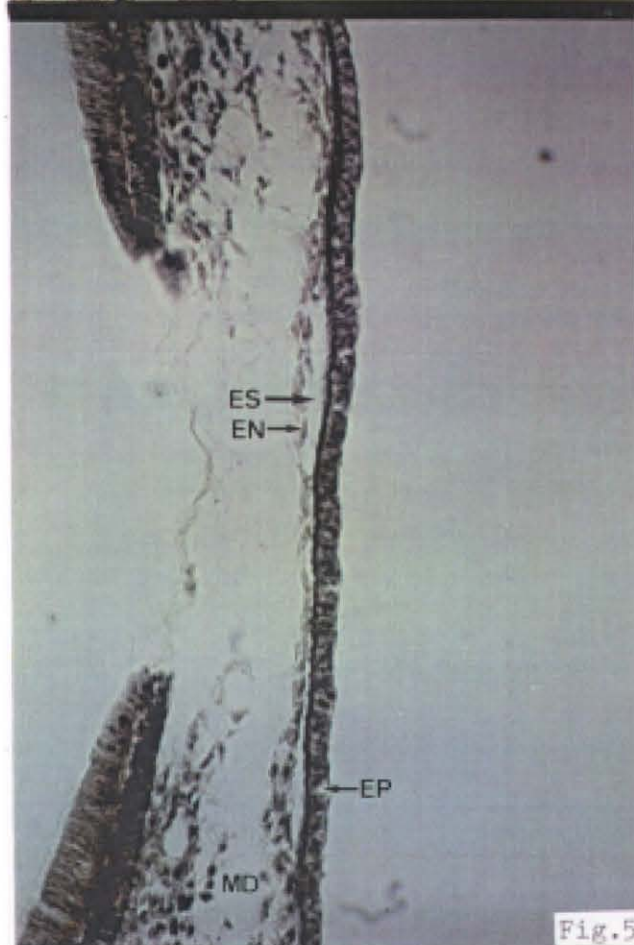
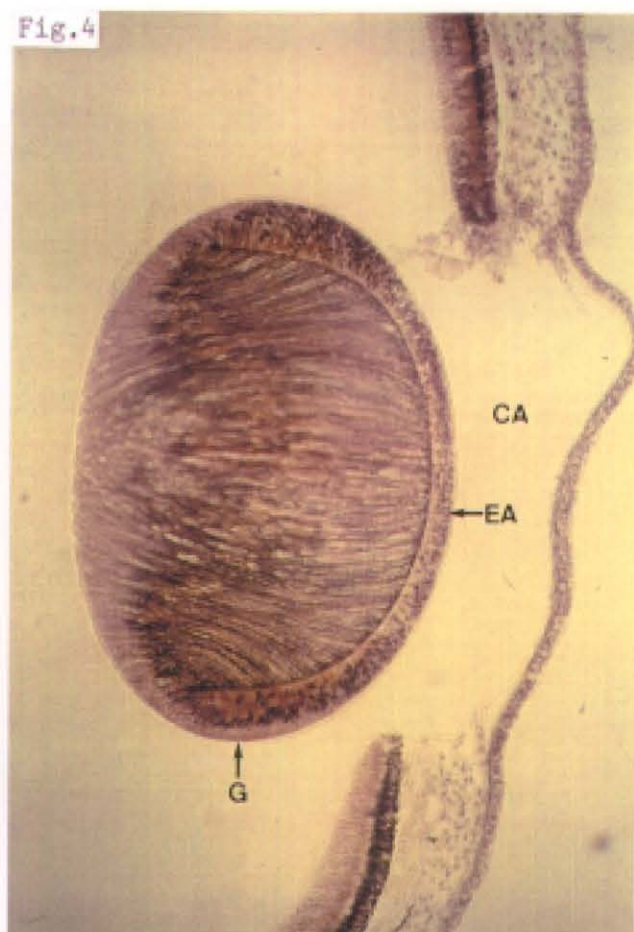


Fig.5



Fig.6

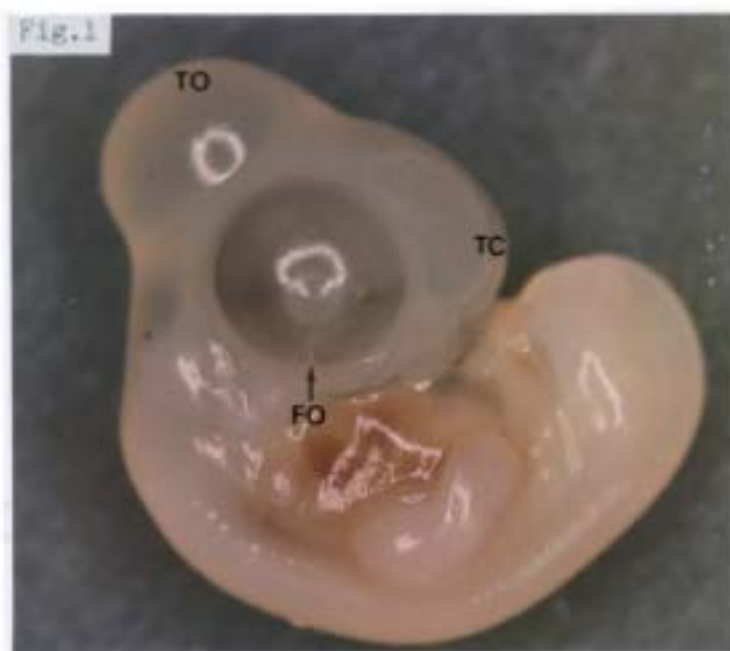
Fig.7



Fig.8



ESTADIO 20



ESTADIO 20: EMBRION CT-68

Fig.1: Visión lateral derecha donde observamos la longitud de los miembros superiores e inferiores y la fisura óptica como una línea blanquecina. (2x)

ESTADIO 20

Estadio 20: 5 días de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-68. 5 días y 5 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Las extremidades se han alargado y en las láminas digitales, los surcos van individualizando los dedos.

Empiezan a formarse los primordios del pico superior e inferior.

Existe una pequeña fosa situada dorsal al arco mandibular, que corresponde a la abertura del conducto auditivo externo.

El crecimiento de la cabeza comienza a englobar el tectum óptico.

En el globo ocular distinguimos perfectamente el cristalino a través del orificio pupilar que ha disminuido de diámetro. Vemos aún la fisura óptica como una línea blanquecina. (figura 1)

ESTADIO 20: EMBRION CT-68

Fig.2: Corte horizontal oblicuo que muestra la disposición de las fibras primarias del cristalino. (BB, 20x)

Fig.3: Corte horizontal oblicuo donde observamos el globo ocular y la condensación mesodérmica que le rodea (flechas). (BB, 4x)

Figs.4 y 5: Detalles de la córnea donde vemos el epitelio, el estrato acelular y el endotelio. (BBV y BB, 40x)

Fig.6: Detalle del neuroepitelio retiniano y del epitelio pigmentado a nivel central. (BB, 40x)

Fig.7: Detalle del borde de la vesícula óptica donde vemos que el espesor de ambos se va igualando. (BBV, 40x)

Fig.8: Corte a nivel de la salida de las fibras ópticas y de la cabeza del nervio óptico. (BB, 40x)

Fig.2

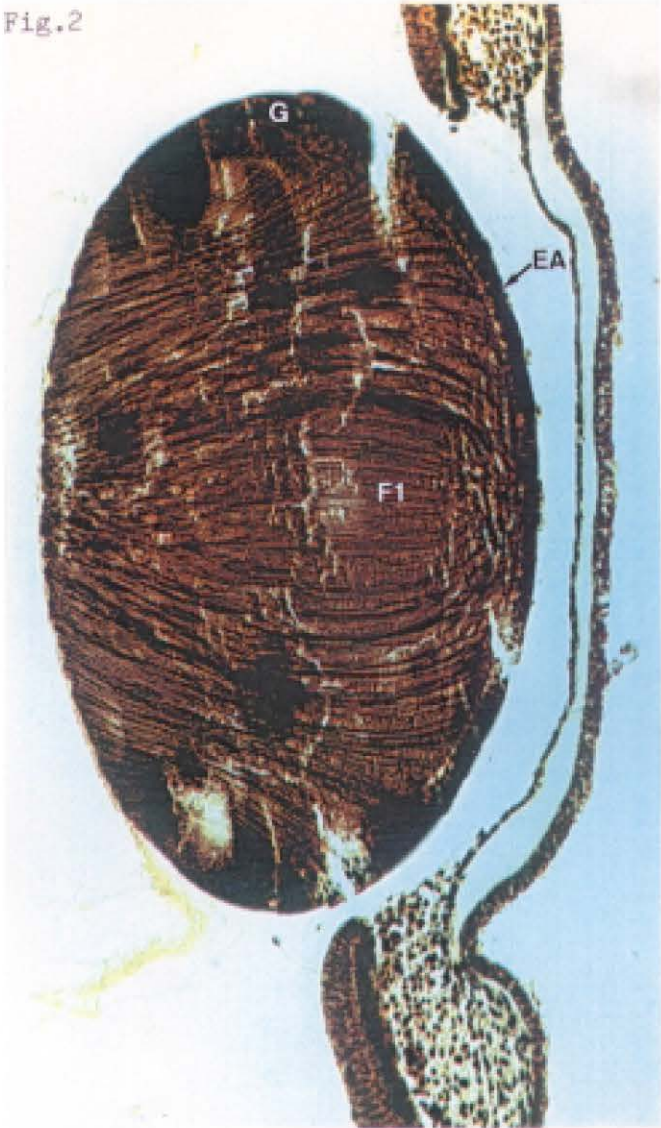


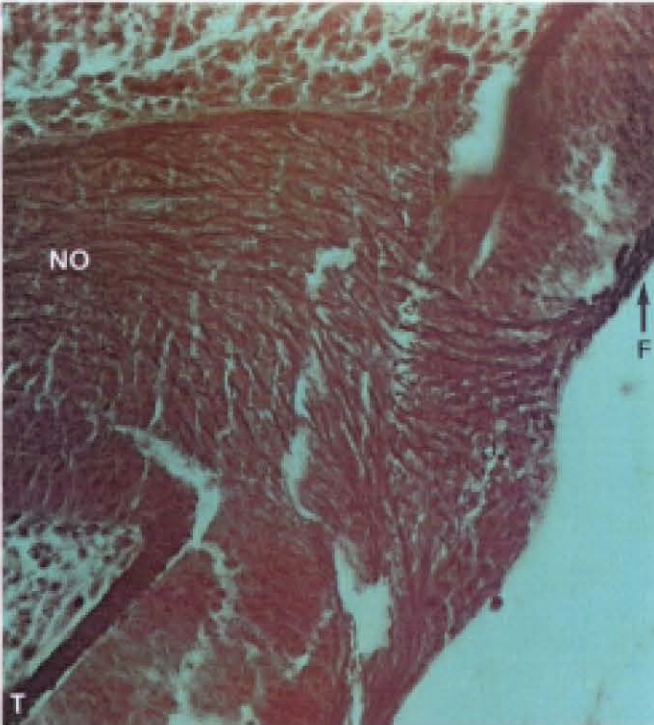
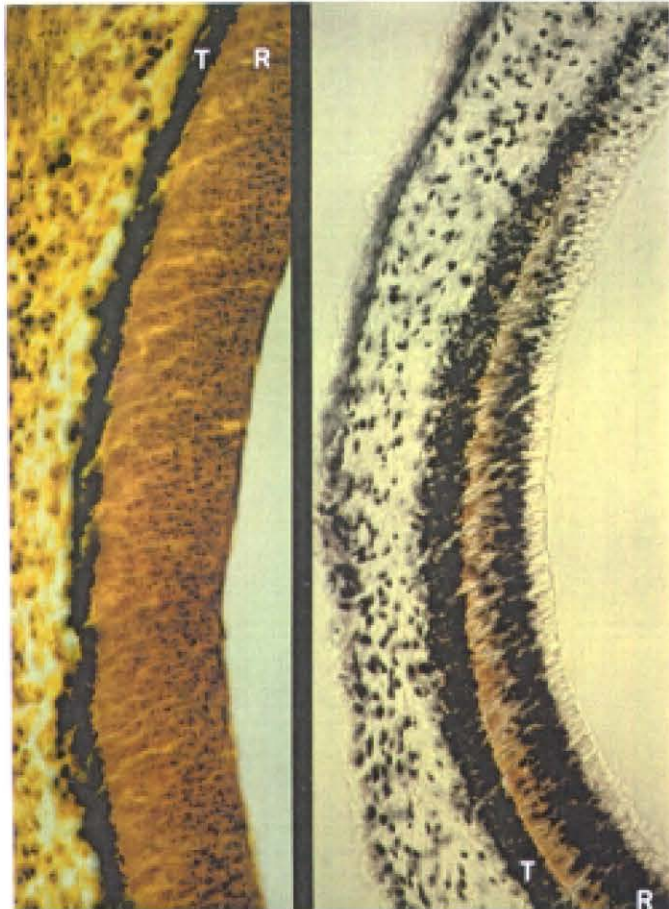
Fig.3



Fig.4



Fig.



ESTADIO 21

ESTADIO 21: EMBRION CT-75

Fig.1: Visión lateral derecha donde observamos el alargamiento del cuello y el desarrollo de las extremidades. (2x)



ESTADIO 21

Estadio 21: 5 días y medio de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-75. 5 días y 15 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En las extremidades superiores el pliegue del codo es más pronunciado. En las láminas digitales de las alas y patas el segundo dedo supera en longitud al resto.

El cuello se alarga y la cabeza ha englobado completamente las vesículas telencefálicas y parte del tectum óptico.

El pico resalta a nivel de la cavidad oral.

En el globo ocular aún se observa la fisura óptica y aparecen los primeros esbozos de las papilas esclerales.
(figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El estrato acelular de la córnea es invadido, desde la periferia, por células procedentes del mesodermo más superficial que rodea al epitelio pigmentado. La región central del estroma se presenta prácticamente acelular, mientras que en la periferia se observan gran cantidad de células, generalmente de aspecto fusiforme, que comienzan a sintetizar colágeno.

A esta invasión se la conoce como la segunda oleada mesodérmica y constituye el esbozo del estroma corneal.

Este fenómeno provoca que la córnea aumente considerablemente de espesor.

El resto de las capas corneales, epitelio y endotelio, conservan características similares a estadios anteriores. (figuras 2 a 5)

En el cristalino observamos que las fibras primarias comienzan a situarse en el centro, desplazadas y comprimidas por las fibras secundarias procedentes de la región ecuatorial y preecuatorial del epitelio anterior. Los núcleos de las fibras aparecen pequeños y picnóticos. (figuras 2, 3 y 6)

La cámara anterior aparece deformada por las alteraciones que sobre el globo ocular ha provocado el proceso histológico. (figuras 2 y 3)

En la periferia, el epitelio pigmentado alcanza el máximo espesor, mientras que la retina se adelgaza mucho, llegando a tener una o dos capas de células. (figuras 2, 7 y 9)

La retina neurosensorial presenta, en la región central, una mayor densidad nuclear en la mitad interna de su espesor. La capa de fibras ópticas es la única que se puede identificar con claridad. (figura 9)

En algunas zonas de la fisura óptica aparece por primera vez una verdadera cresta celular que hace relieve en el interior del globo (esbozo del pecten). En la base de la cresta existen uno o dos vasos sanguíneos que la nutren. (figura 8)

Se distinguen claramente las fibras ópticas formando el nervio óptico.

El nivel del corte histológico permite ver el nervio óptico dividido en dos porciones por el futuro pecten óptico. (figura 8)

ESTADIO 21: EMBRION CT-75

Fig.2: Corte frontal oblicuo del globo ocular en el que destaca el tamaño de la córnea. (BBV, 4x)

Fig.3: Corte de la periferia corneal donde vemos que el estrato acelular comienza a estar parcialmente ocupado por células. (BBV, 20x)

Fig.4: Detalle de la periferia corneal que está siendo invadida por la segunda oleada mesodérmica. (BBV, 40x)

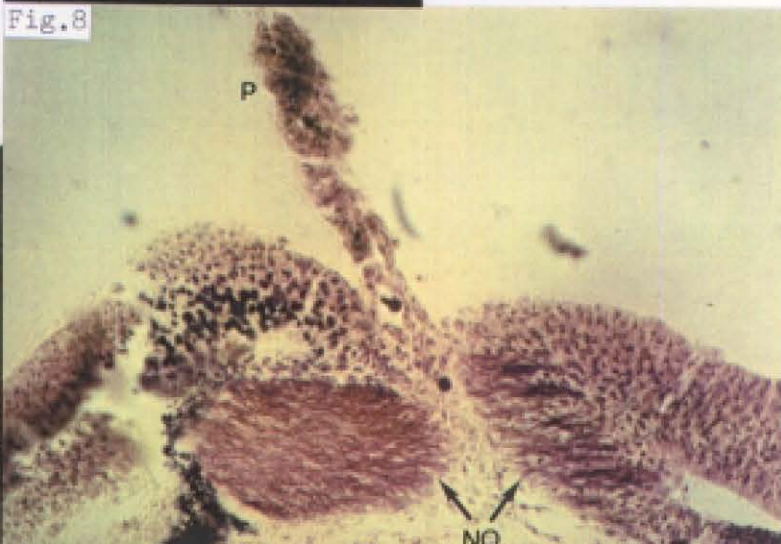
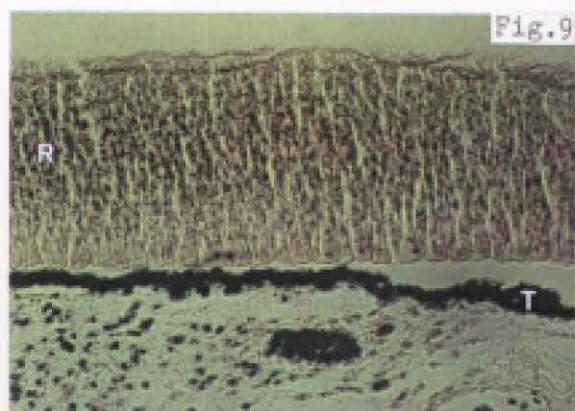
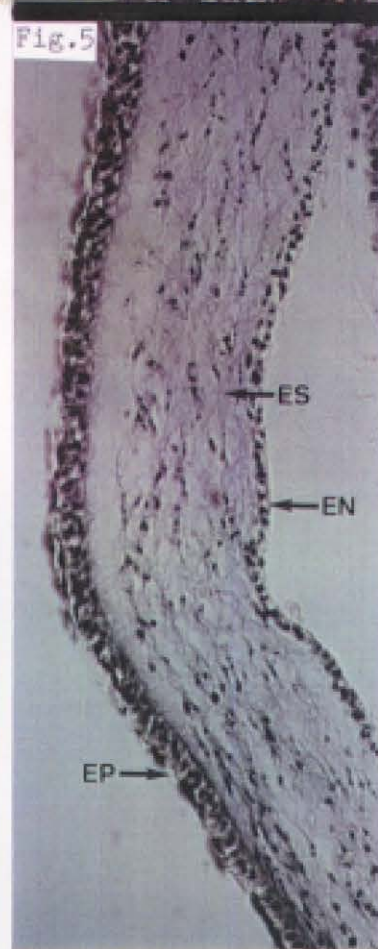
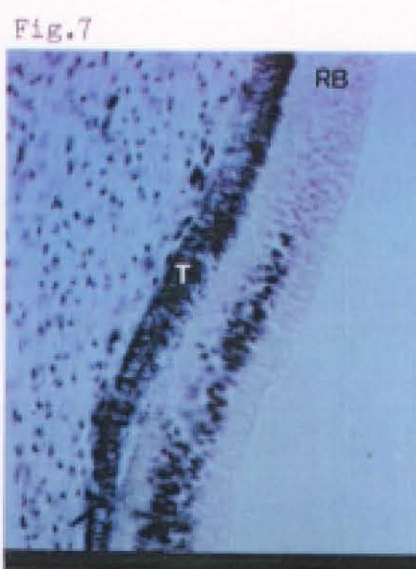
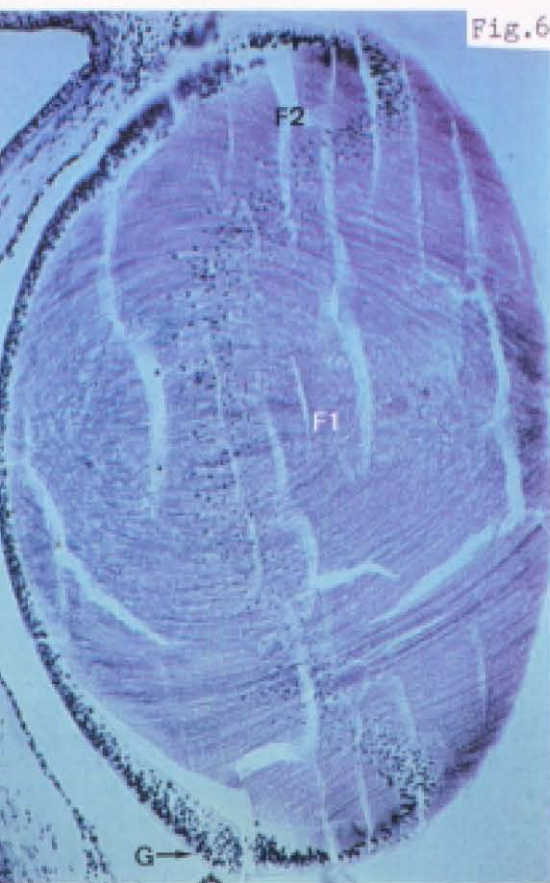
Fig.5: Corte periférico de la córnea donde vemos gran cantidad de células fusiformes ocupando el esbozo del estroma. (BBV, 40x)

Fig.6: Detalle del cristalino. Destaca el aspecto picnótico de los núcleos de las fibras primarias y secundarias. (BBV, 20x)

Fig.7: Detalle de la retina y epitelio pigmentado a nivel periférico, en donde presentan un grosor muy parecido. (BBV, 40x)

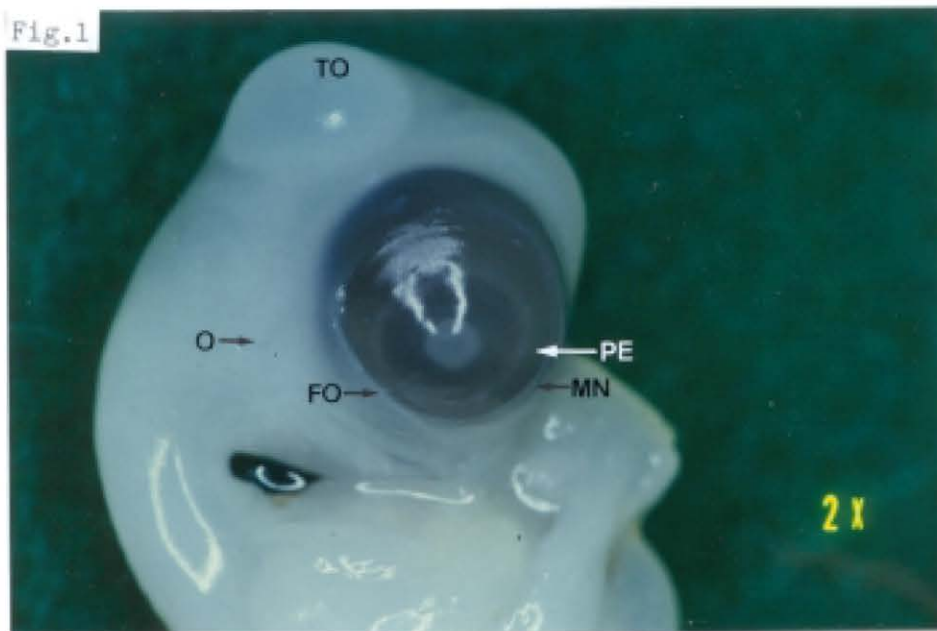
Fig.8: Corte que demuestra el crecimiento del esbozo del pecten en el interior del globo ocular. (BBV, 40x)

Fig.9: Detalle de la retina neurosensorial y epitelio pigmentado a nivel central. Por fuera vemos una condensación mesodérmica vascularizada. (BBV, 40x)



ESTADIO 22

Fig.1



ESTADIO 22: EMBRION CT-80

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos algunas papilas esclerales rodeando la córnea y el esbozo de la membrana nictitante. (2x)

ESTADIO 22

Estadio 22: 6 días de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-80: 6 días de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Se observan los primeros esbozos de plumas en la superficie dorsal de la región lumbar.

Los miembros están más desarrollados y el ala está plegada a nivel del codo.

El cuello continúa alargandose.

El tectum óptico todavía hace un pequeño relieve.

En el extremo del pico superior aparece el esbozo del diamante.

En el globo ocular destacan los esbozos de las papilas esclerales que rodean la circunferencia corneal. La membrana nictitante inicia el crecimiento en dirección dorsal. La línea de cierre de la fisura coroidea, aunque aún es visible, no llega al orificio pupilar.

El orificio pupilar continúa disminuyendo de diámetro y la estructura que le rodea presenta una pigmentación más oscura que el resto del globo ocular. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

La condensación mesodérmica que rodea la mayor parte del globo ocular corresponde al esbozo del cartílago escleral. (figuras 2 y 3)

Por primera vez aparece una estructura capaz de teñirse en el interior del globo ocular. Esta estructura, que corresponde al cuerpo vítreo, parece tener mayor consistencia en el espacio correspondiente al eje visual; es decir, entre el cristalino y el esbozo del pecten. (figuras 2, 3 y 6)

El estroma corneal está totalmente ocupado por células de aspecto fusiforme y fibras colágenas. En algunas zonas, sobre todo en el centro, parece que las células se localizan en la mitad interna. En el epitelio vemos que la capa basal aparece con una tinción oscura que contrasta con la capa más superficial. (figuras 2 a 5)

Los núcleos de las fibras cristalinianas disminuyen de tamaño haciéndose picnóticos, por lo que en este estadio ya no podemos distinguirlos con claridad. Las regiones ecuatorial y preecuatorial son las únicas que se mantienen activas, pues son el origen de las fibras secundarias. (figuras 2 y 3)

Los bordes de la vesícula óptica con el mesodermo adyacente forman el primer esbozo del iris.

Entre el esbozo iridiano y el endotelio corneal se delimita un espacio ocupado por tejido mesodérmico que constituye el esbozo del ángulo irido-corneal. (figuras 2 y 3)

Rodeando la circunferencia corneal aparecen unos pliegues mesodérmicos cubiertos por un ectodermo grueso.

Estas estructuras son las papilas esclerales que veíamos en la imagen macroscópica del embrión. (figuras 2 y 3)

Al igual que describíamos en estadios anteriores, en la retina neurosensorial existe una mayor densidad nuclear en su mitad interna. Según nos acercamos a los bordes, llega un punto en el que desaparece una banda fuertemente teñida que corresponde a las células que captan el colorante. La desaparición de esta banda coincide con un adelgazamiento de la retina y engrosamiento del epitelio pigmentado. (figura 2 y 3)

La capa de fibras ópticas, constituida por los axones de las células ganglionares, prácticamente está ausente en la periferia y alcanza el máximo espesor alrededor de la salida del nervio óptico. (figuras 2, 3 y 6 a 8)

El epitelio pigmentado es más grueso en los bordes de la vesícula óptica y en ocasiones sobrepasa sus límites. A nivel de la cabeza del nervio óptico pierde su pigmentación y se continúa con su envoltura. (figuras 3 y 6)

El esbozo del pecten se alarga y crece hacia el interior de la cavidad vítrea. (figura 7)

ESTADIO 22: EMBRION CT-80

Fig.2: Corte horizontal oblicuo donde destaca por primera vez la presencia del esbozo del cuerpo vítreo. Las flechas señalan la condensación mesodérmica. (BB, 4x)

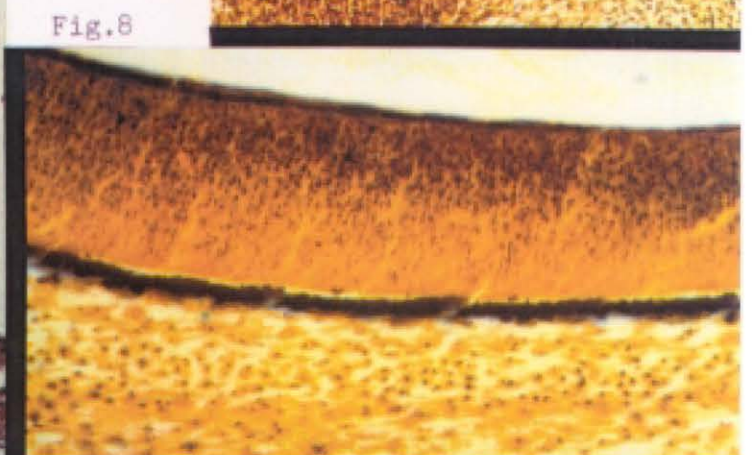
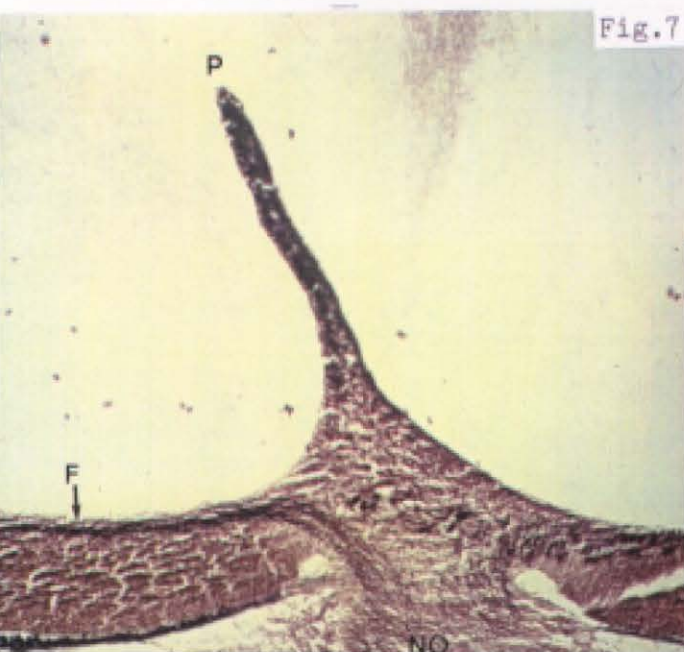
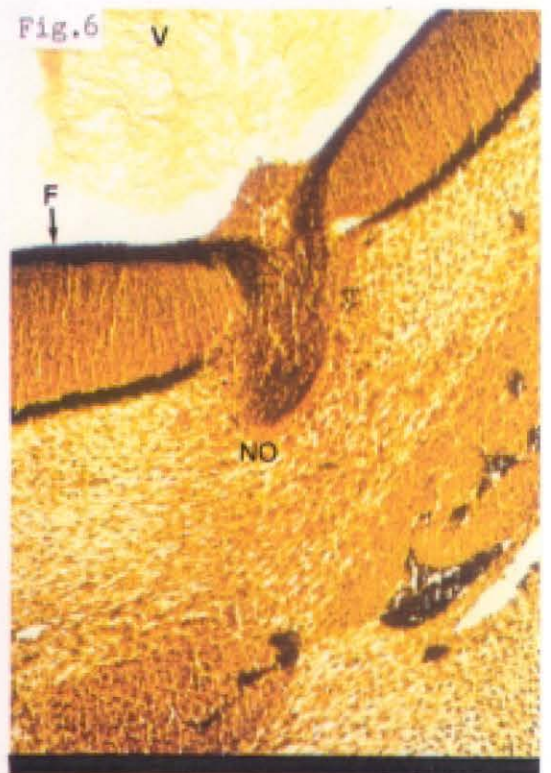
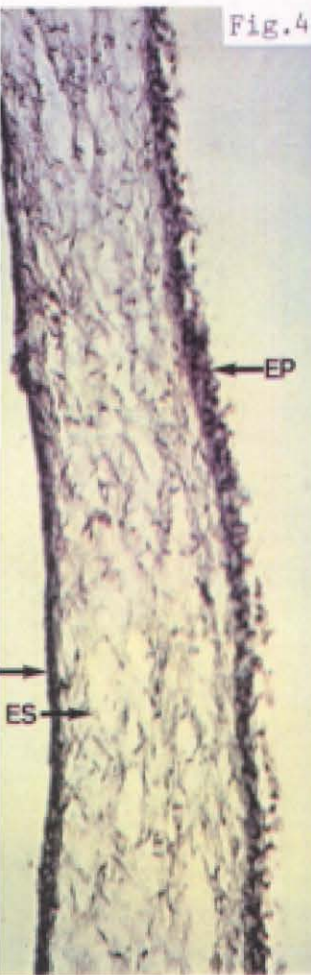
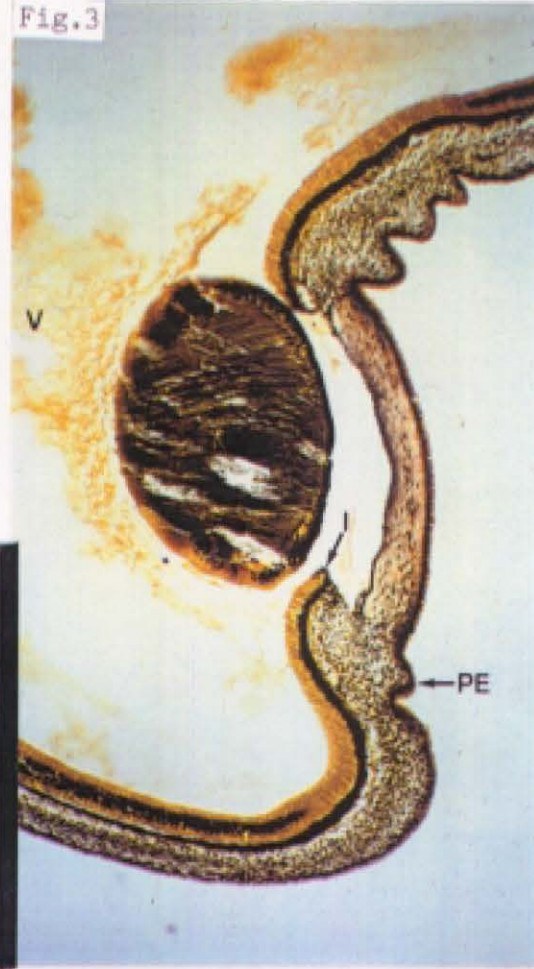
Fig.3: Corte del segmento anterior que muestra los esbozos del iris y del ángulo irido-corneal. (BB, 10x)

Figs.4 y 5: Detalles de la córnea con el estroma ocupado por células mesodérmicas y fibras colágenas. (BBV y BB, 40x)

Fig.6: Detalle de la salida de las fibras ópticas a nivel de la cabeza del nervio óptico. (BB, 20x)

Fig.7: Corte a nivel del esbozo del pecten por donde también salen fibras ópticas. (BBV, 20x)

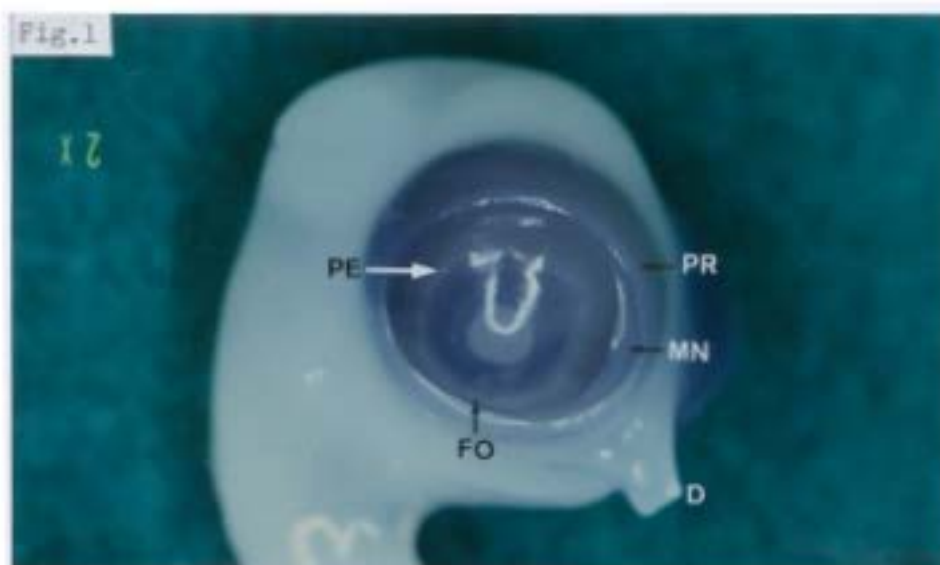
Fig.8: Detalle de la retina neurosensorial y epitelio pigmentado de la zona central del globo ocular. (BB, 40x)



ESTADIO 23

ESTADIO 23: EMBRION CT-82

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza donde vemos que el tectum sólo se ve por transparencia. La membrana nictitante continúa creciendo en dirección dorsal. (2x)



EMBRION 23

Estadio 23: 6 días y medio de incubación.

Ejemplo: Embrión CT-82: 6 días y 16 horas de incubación.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Los esbozos de plumas pueden verse también en la raíz de los miembros superiores e inferiores.

Los dedos están perfectamente delimitados.

El tectum óptico ha quedado incluido en su totalidad dentro de la cavidad craneal y solamente se le ve por transparencia.

El proceso mandibular ha alcanzado el pico superior. El diamante, de color blanco, destaca en la punta del pico superior.

Los párpados presentan forma de elipse y no llegan a cubrir la córnea. La membrana nictitante se sitúa a medio camino entre el borde de los párpados y las papilas esclerales.

Alrededor del orificio pupilar existe un anillo que presenta una pigmentación más oscura que el resto del globo ocular.

Aún es posible observar la fisura óptica. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

De la condensación mesodérmica que rodea a la vesícula óptica comienza a diferenciarse el cartílago escleral que presenta una solución de continuidad a nivel de la salida del nervio óptico. (figura 2)

Entre el cartílago escleral y el epitelio pigmentado existe una fina capa de tejido mesodérmico vascularizado y que corresponde a la coroides. (figura 6)

Rodeando la córnea se observan las papilas esclerales como pequeñas condensaciones mesodérmicas cubiertas por ectodermo. (figuras 2 y 5)

La morfología de la córnea experimenta una importante variación, basada fundamentalmente en el cambio de espesor del estroma. En relación al resto del globo ocular destaca su diferente radio de curvatura. Estos detalles dan a la córnea un aspecto homogéneo y delimitado. (figura 2)

El desarrollo del estroma corneal provoca que el epitelio y sobre todo el endotelio parezca que han reducido su espesor en relación a estadios anteriores. Existen dos líneas oscuras que separan el estroma del epitelio y del endotelio (esbozos de la membrana de Bowman y de la membrana de Descemet). (figura 4)

La mitad superficial del estroma corneal presenta mayor densidad de células y fibras. (figuras 2 y 4)

Observamos como las fibras primarias del cristalino, que han perdido sus núcleos, están comprimidas en el centro por las fibras secundarias, que se originan a partir de las células situadas en las regiones ecuatorial y preecuatorial

del epitelio anterior. (figuras 2 y 3)

El esbozo iridiano se alarga y sus bordes cubren la región preecuatorial del cristalino. En su espesor se distinguen tres capas; la interna es la *pars iridae retinae* ó porción más periférica de la retina ciega; la externa está formada por el mesodermo que rodeaba los bordes de la vesícula óptica y entre ambas se encuentra el epitelio pigmentado. (figuras 2 y 5)

El crecimiento del esbozo iridiano junto a los cambios morfológicos del mesodermo en los límites de la córnea, hacen que el espacio situado entre ambos vaya adquiriendo la forma típica del ángulo irido-corneal. (figuras 2 y 5)

En el neuroepitelio retiniano observamos que la capa más interna o capa de fibras ópticas presenta su mayor espesor en la región que rodea la salida del nervio óptico. En el resto vemos capas que captan el colorante con mayor o menor intensidad. (figuras 2 y 5 a 7)

En algunas zonas, la retina y el epitelio pigmentado están separados. Este hecho, que lo observamos con frecuencia, es un artefacto de técnica debido al proceso histológico que nos permite observar una serie de interesantes características, como por ejemplo, la imagen irregular que presenta la superficie externa de la retina, debido a los artículos externos de los fotorreceptores. (figuras 2 y 6)

En el epitelio pigmentado no hay cambios, aunque es importante destacar que aumenta su espesor a partir de la zona donde la retina neurosensorial se hace más delgada (esbozo de la *pars terminalis retinae*). (figuras 2 y 5 a 7)

El pecten continúa creciendo en longitud y el borde aparece más pigmentado que el resto. En la base observamos la presencia de un vaso sanguíneo situado entre las fibras ópticas que están saliendo del globo ocular para formar el nervio óptico. (figura 7)

ESTADIO 23: EMBRION CT-82

Fig.2: Corte horizontal oblicuo. Además del globo ocular rodeado por el esbozo del cartílago escleral (flechas), observamos los esbozos del párpado superior y de la membrana nictitante. (BBV, 4x)

Fig.3: Detalle de la disposición de las fibras primarias y secundarias del cristalino, así como de la morfología del epitelio anterior. (BBV, 20x)

Fig.4: Detalle de la córnea donde observamos el gran espesor del estroma. (BBV, 40x)

Fig.5: Corte que nos permite observar una papila escleral y los esbozos del iris y del ángulo irido-corneal. (BBV, 20x)

Fig.6: Detalle de la retina neurosensorial y del epitelio pigmentado y por fuera el esbozo de la coroides. Destaca también la nitidez de la capa de fibras ópticas. (BBV, 40x)

Fig.7: Corte del pecten en cuya base podemos ver el vaso sanguíneo encargado de su nutrición (flecha) y la salida de las fibras ópticas. (BBV, 20x)



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4

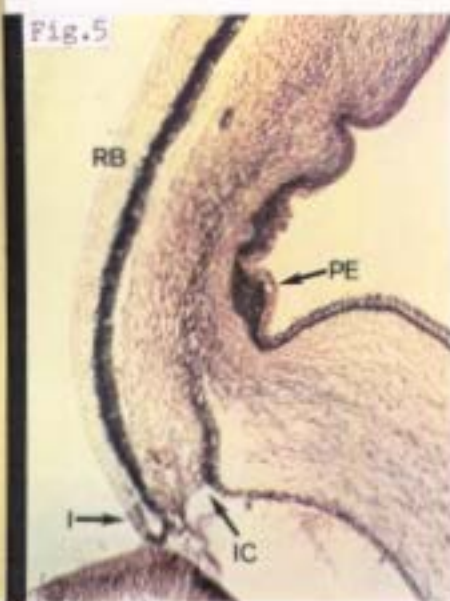


Fig. 5

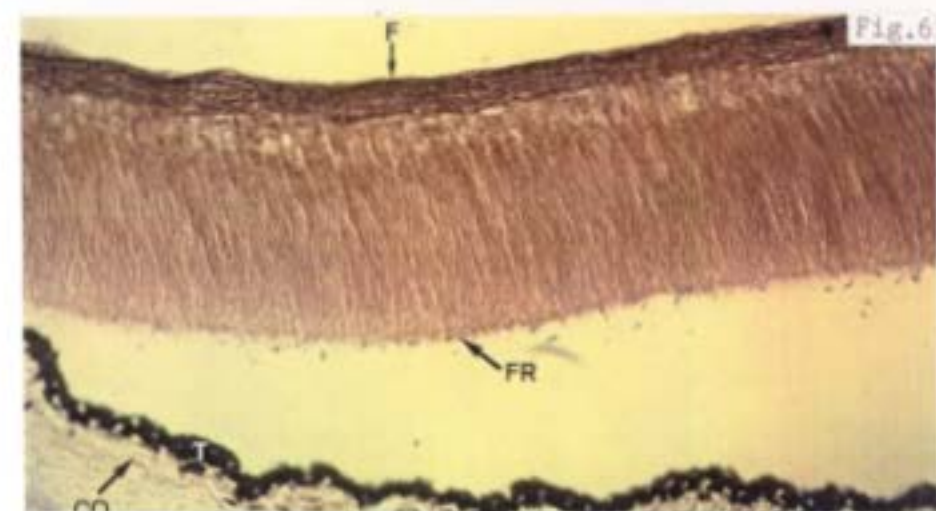


Fig. 6

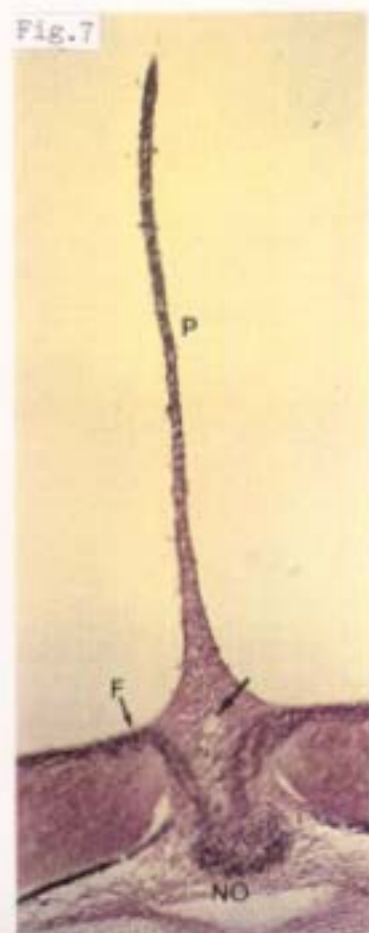
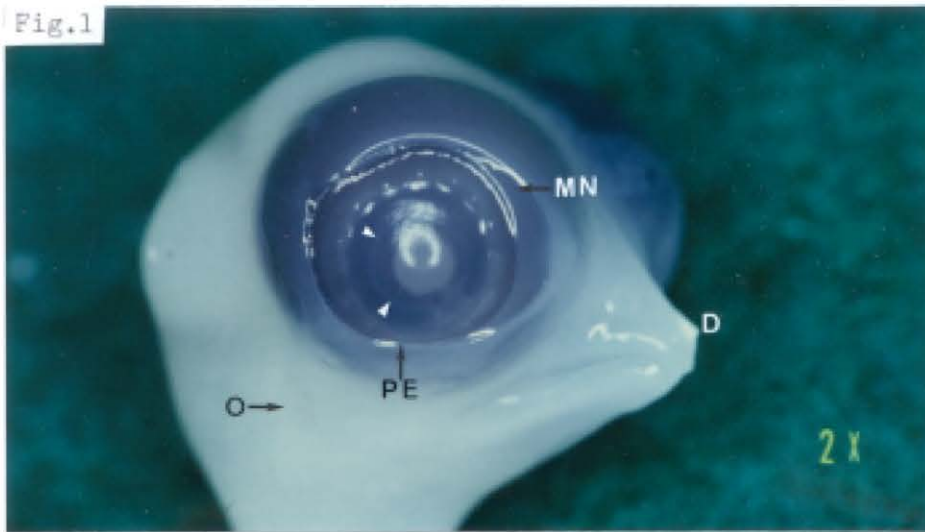


Fig. 7

ESTADIO 24

Fig.1



ESTADIO 24: EMBRION CT-86

Fig.1: Visión lateral derecha donde se observan con detalle las diversas estructuras del globo ocular y los párpados. Las flechas pequeñas señalan el ecuador del cristalino. (2x)

ESTADIO 24

Estadio 24: 7 días de incubación.

Longitud del pico: 1,1mm.

Ejemplo: Embrión CT-86: 7 días de incubación.

Longitud del pico: 1,1mm.

Longitud 3º dedo: 0,23cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

De la lámina digital se han independizado el primer dedo de los miembros superiores y el cuarto de los inferiores.

Los esbozos de plumas ya son visibles en el pecho, parte ventral del cuello y en los párpados superiores.

El diamante situado en el extremo del pico superior es más evidente.

El contorno del borde de los párpados tiene forma elipsoidal. El párpado inferior, en su crecimiento, alcanza el límite de las papilas esclerales.

La membrana nictitante cubre aproximadamente las 2/3 partes del espacio que se encuentra entre el borde palpebral y las papilas esclerales.

En el globo ocular ya no es visible la línea de cierre de la fisura óptica. Detrás del esbozo iridiano, observamos una circunferencia blanquecina entre las papilas esclerales y el reborde pupilar que corresponde al ecuador del cristalino. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El cuerpo vítreo que aparece parcialmente plegado es más denso que en estadios anteriores. (figura 2)

El desarrollo de los párpados y la membrana nictitante permite delimitar perfectamente los fondos de saco conjuntivales. (figuras 2, 5 y 6)

Vemos como el cartílago escleral rodea el globo ocular, excepto en el punto de salida del nervio óptico. En su crecimiento llega incluso hasta las zonas de transición entre retina visual y ciega. (figuras 2 y 5 a 8)

La coroides aparece como una delgada capa con vasos sanguíneos situada entre el epitelio pigmentado y el cartílago escleral. (figuras 5 a 7)

El estroma corneal continúa aumentando de grosor y en su mitad externa, que está en contacto con el epitelio, presenta una coloración más intensa que en la mitad interna. (figuras 2 a 4)

En el esbozo del iris podemos observar claramente la presencia de tres capas. La interna, muy delgada, corresponde a la *pars iridae retinae*; a continuación un grueso epitelio pigmentado y por último el estroma, derivado mesodérmico donde vemos que comienza a diferenciarse el músculo esfínter o constrictor de la pupila. (figuras 2 y 3)

Entre el esbozo del iris y la zona de transición entre retina visual y ciega (*pars terminalis retinae*) se forman por primera vez unos pliegues que incluyen el epitelio pigmentado, la zona ciega de la retina subyacente y el mesodermo correspondiente. Estos pliegues son el primer esbozo de los

procesos ciliares. (figura 5)

En la retina neurosensorial se observan perfectamente delimitadas todas las capas. Las capas más oscuras corresponden a acúmulos de núcleos y citoplasma (capas nucleares) y las capas más claras contienen dendritas y axones y es donde tienen lugar las sinapsis (capas plexiformes). Esta ordenación va desapareciendo según nos acercamos a la periferia, hasta que en el borde vemos una sola hilera de células. (figuras 5 a 7)

El epitelio pigmentado es más grueso cuando se encuentra junto a la retina ciega que cuando recubre a la retina neurosensorial. El cambio de grosor tiene lugar en la *pars terminalis retinae*. (figuras 5 y 6)

Hay zonas en las que la retina y el epitelio pigmentado están siempre en íntimo contacto, mientras que hay otras zonas donde generalmente aparecen separadas. En este embrión vemos que toda la retina ciega, hasta la transición, está unida al epitelio pigmentado, al igual que alrededor de la salida del nervio óptico. (figuras 2 y 5 a 8)

El pecten sigue su desarrollo sin modificaciones. (figura 8)

El nervio óptico se delimita perfectamente. (figuras 2 y 8)

ESTADIO 24: EMBRION CT-86

Fig.2: Corte horizontal oblicuo que muestra una panorámica del globo ocular y la salida del nervio óptico. (BB, 2x)

Fig.3: Detalle del segmento anterior que incluye córnea, cristalino, esbozo del iris y cámara anterior.(BB, 10x)

Fig.4: Detalle de la córnea donde destaca el espesor del estroma. (BB, 20x)

Fig.5: Corte que incluye el esbozo de los primeros procesos ciliares y la *pars terminalis retinae*. (BBV, 10x)

Fig.6: Corte a nivel de la membrana nictitante. (BBV, 10x)

Fig.7: Detalle de las capas de la retina neurosensorial. (BBV, 40x)

Fig.8: Corte donde se observa el pecten y la salida del nervio óptico. (BB, 20x)

Fig.2



Fig.3



Fig.3

Fig.4

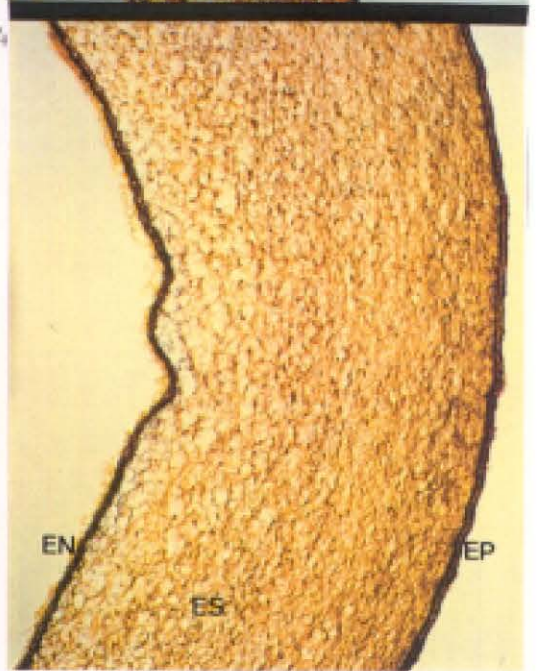
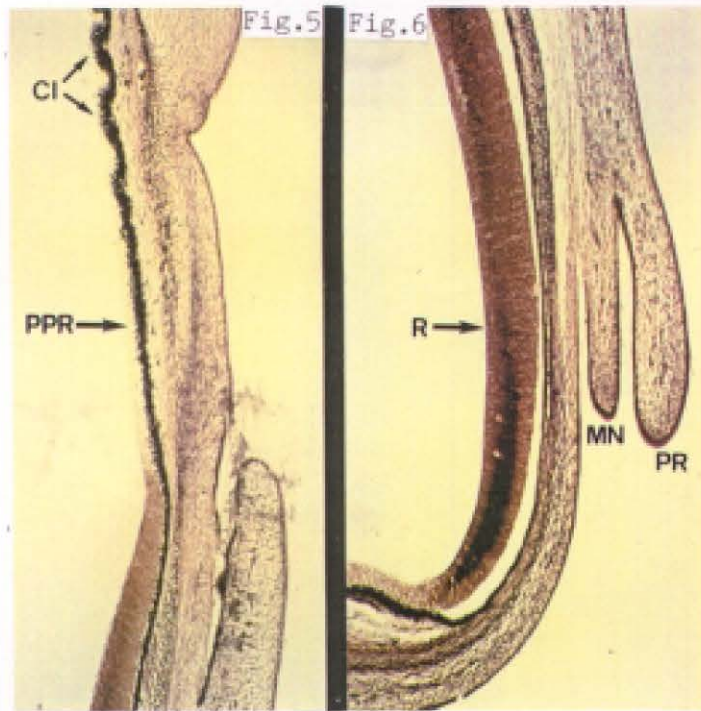


Fig.7

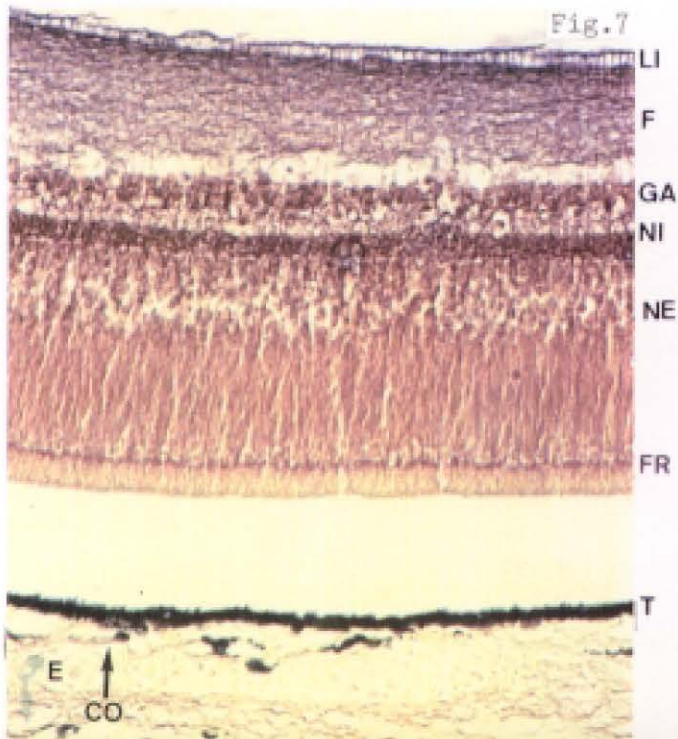


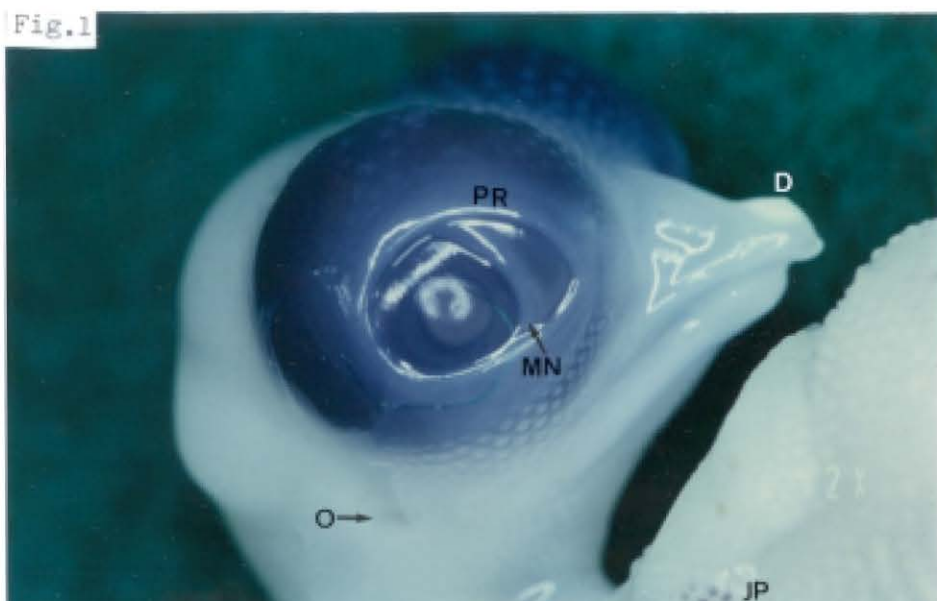
Fig.8



ESTADIO 25

ESTADIO 25: EMBRION CT-92

Fig.1: Visión lateral derecha. Vemos que en la raíz del ala comienzan a pigmentarse los esbozos de plumas. La membrana nictitante comienza a cubrir la córnea. (2x)



ESTADIO 25

Estadio 25: 8 días de incubación.

Longitud del pico: 1,8-2 mm.

Ejemplo: Embrión CT-92. 8 días de incubación.

Longitud del pico: 1,8 mm.

Longitud del 3º dedo: 0,36 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En los dedos de las extremidades inferiores, aparecen los esbozos de las garras.

Los esbozos de las plumas aumentan en número y tamaño por toda la superficie del embrión. Destacamos que entre los párpados superiores y la línea mediodorsal hay 10 filas de esbozos de plumas y que algunos esbozos sobre el húmero, muslo y dorso de la cola comienzan a pigmentarse.

El orificio del conducto auditivo externo se sitúa junto al globo ocular y caudal a él.

En la cabeza el orificio de la fisura nasal se estrecha. El borde de los párpados tiene forma ovalada con el extremo rostral agudo. Los párpados delimitan la circunferencia corneal, excepto el borde rostral que está cubierto por la membrana nictitante. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Observamos la presencia de una estructura que rellena el interior del globo ocular y que capta perfectamente el colorante. Esta estructura es el cuerpo vítreo y desde la superficie posterior del cristalino salta hasta la *pars terminalis retinae*; es decir, que tanto el iris como los procesos ciliares no tienen contacto con el vítreo. Rodeando al pecten también existe una zona ópticamente vacía.

El cuerpo vítreo que se encuentra rodeando el cristalino, ha captado con más intensidad el colorante.

Podemos observar que la práctica totalidad de la retina neurosensorial se halla separada del epitelio pigmentado y que sólo aquella que rodea la salida del nervio óptico, la base del pecten, y la retina ciega permanece unida al epitelio pigmentado.

Destacamos también que el epitelio pigmentado aparece siempre unido a la coroides y cartílago escleral. (figuras 2, 3 y 6 a 9)

En el borde libre de los párpados se distingue la transición entre la piel y la conjuntiva. La membrana nictitante está recubierta por tejido conjuntival. A este nivel se forman dos fondos de saco conjuntivales, uno entre el párpado y la membrana nictitante y otro entre ésta y la conjuntiva que rodea el tejido mesodérmico superficial al cartílago escleral. (figura 5)

La córnea presenta pocas variaciones, pues el estroma conserva una mayor densidad en su mitad externa y existen dos líneas oscuras que separan el epitelio y endotelio del estroma

(membrana de Bowman y membrana de Descemet). (figuras 2 a 4)

Los pliegues de los procesos ciliares se acentúan y en el espesor de su pared podemos distinguir tres capas, como en el iris. La capa interna está formada por la retina ciega, que a este nivel se denomina *pars ciliaris retinae*, a continuación el epitelio pigmentado y la más externa corresponde al estroma surgido del mesodermo que rodea los bordes de la vesícula óptica. (figuras 2 y 3)

En el epitelio anterior del cristalino se distinguen dos zonas, no sólo por el espesor, sino porque los únicos núcleos que se tiñen son los de la zona ecuatorial-preecuatorial. (figura 3)

En la retina neurosensorial no hay cambios significativos, pues sus capas están perfectamente delimitadas. Observamos que el cuerpo vítreo está unido a la capa limitante interna pero se desprende justo en la *pars terminalis retinae*. (figura 6 a 8)

Los axones de las células ganglionares abandonan el globo ocular agrupadas en fascículos rodeados por tejido conjuntivo. (figura 9)

El pecten sigue teniendo una morfología rectilínea sin que podamos distinguir pliegues. (figuras 2 y 9)

ESTADIO 25: EMBRION CT-92

Fig.2: Corte horizontal oblicuo donde destaca la presencia del cuerpo vítreo. (BB, 2x)

Fig.3: Corte del segmento anterior en el que observamos el iris y el esbozo de los primeros procesos ciliares. (BB, 10x)

Fig.4: Detalle de la córnea donde vemos dos líneas densas que separan al epitelio y endotelio, del estroma. (BBV, 20x)

Fig.5: Corte a nivel de la membrana nictitante y párpado. Observamos los dos fondos de saco conjuntivales. (BBV, 20x)

Fig.6: Detalle de la *pars terminalis retinae*. Vemos como a ese nivel el cuerpo vítreo se separa. (BB, 40x)

Figs.7 y 8: Detalles de la estratificación de la retina neurosensorial en capas. (BB y BBV, 40x)

Fig.9: Corte a nivel de la base del pecten donde vemos que las fibras ópticas se agrupan en fascículos para formar el nervio óptico. (BBV, 20x)

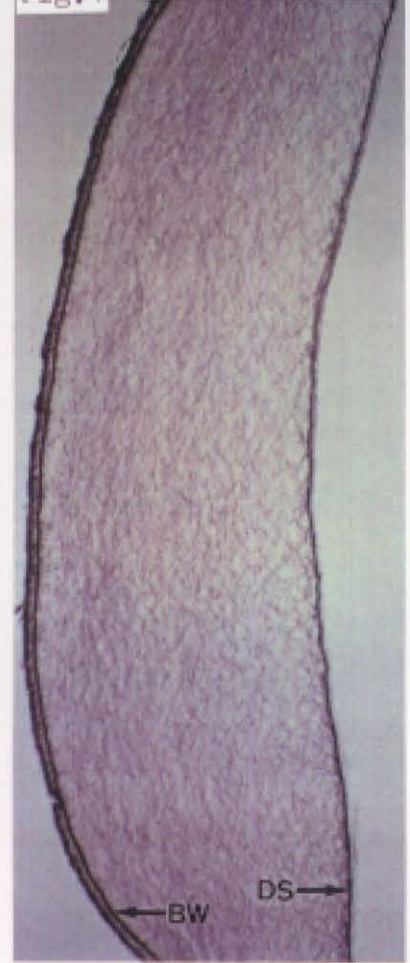
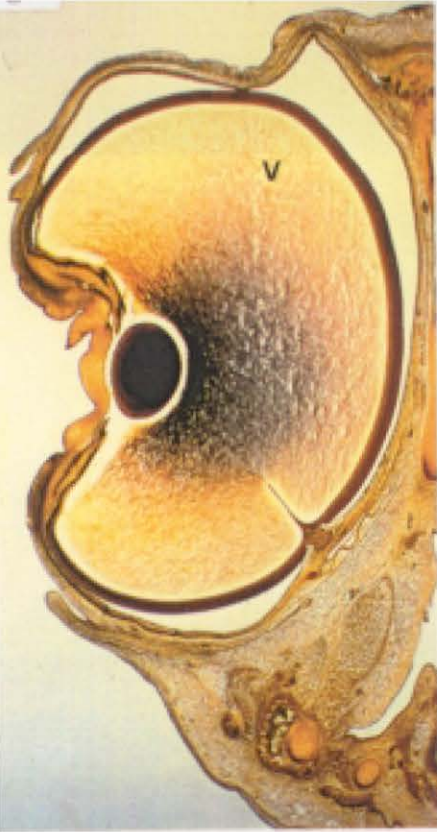


Fig.5

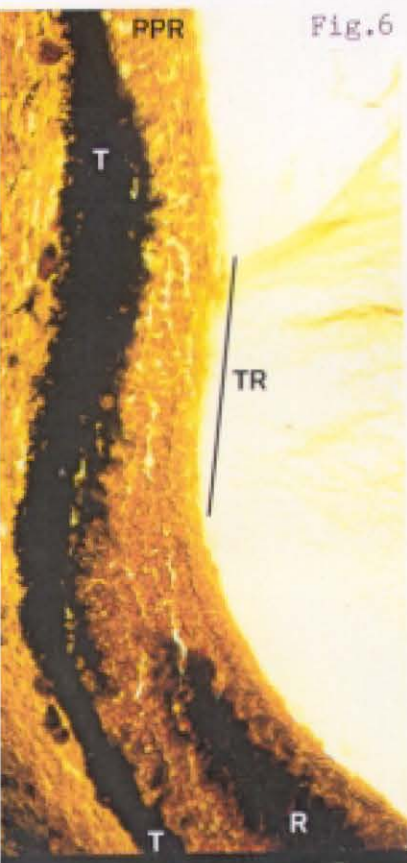
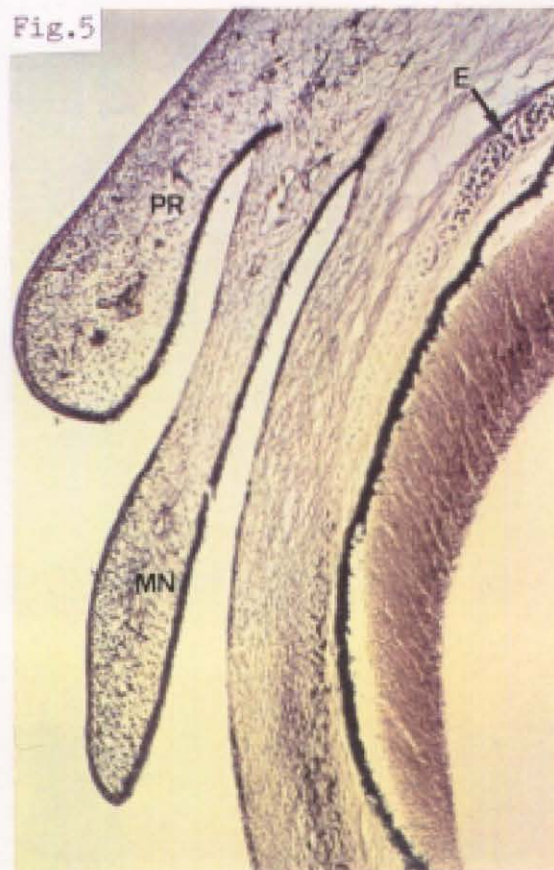
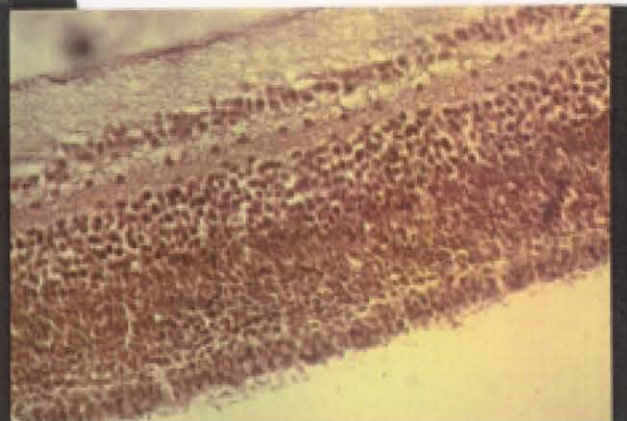


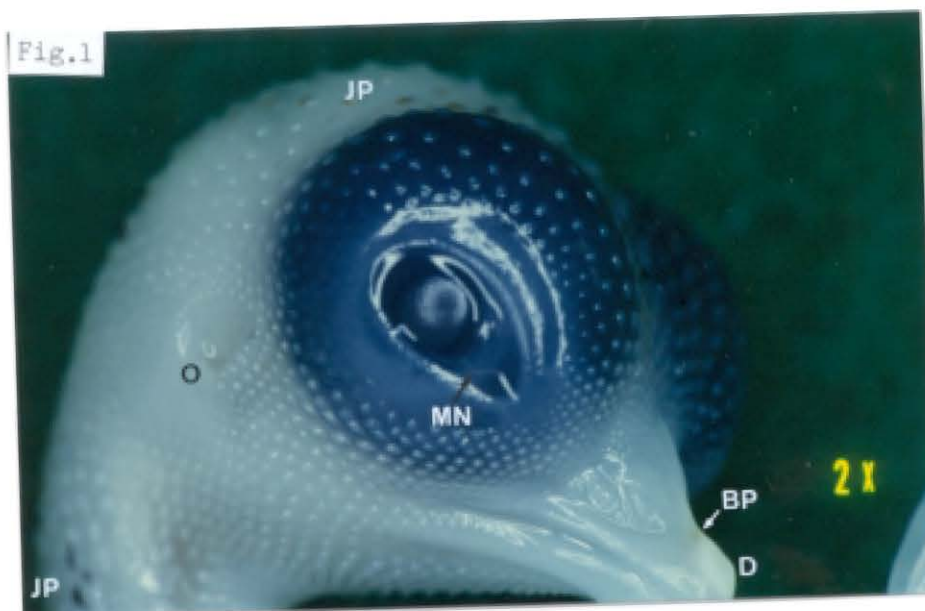
Fig.6



Fig.7



ESTADIO 26



ESTADIO 26: EMBRION CT-100

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos que se reduce el tamaño de la hendidura palpebral y aumenta el número de esbozos pigmentados de plumas. (2x)

ESTADIO 26

Estadio 26: 9 días de incubación.

Longitud del pico: 2,2 mm.

Ejemplo: Embrión CT-100: 9 días y 4 horas de incubación.

Longitud del pico: 2,2 mm.

Longitud del 3º dedo: 0,43 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Aumenta el número de esbozos pigmentados de plumas que son visibles en el húmero, muslo, cola, cuello, dorso de la cabeza y entre los globos oculares.

El orificio del conducto auditivo externo está rodeado de esbozos de plumas.

Comienza a pigmentarse el dorso del pico superior que rodea el diamante.

Disminuye la abertura de los párpados que cubren parcialmente la córnea. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El cuerpo vítreo ocupa toda la cavidad ocular. La hialoides vítrea permanece anclada a la limitante interna de la retina neurosensorial, aunque el proceso histológico hace que alguna zona se desprenda y se pliegue. Normalmente la zona más densa del cuerpo vítreo es la que rodea el pecten. (figura 2)

El epitelio corneal aumenta de espesor al crecer el número de hileras celulares. Entre la capa basal proliferativa del epitelio y el estroma aparece una línea de separación que corresponde a la membrana de Bowman. Sin embargo, no hemos observado la existencia de una estructura parecida entre el estroma y el endotelio. (figuras 3 y 4)

En el estroma corneal aparece una banda central ligeramente más densa que destaca del resto. (figura 4)

Continúa el desarrollo y diferenciación del ángulo irido-corneal mientras que lateral a él aparece el esbozo del sistema de drenaje del humor acuoso (semejante al canal de Schlemm) y un tejido muscular que corresponde al esbozo del músculo ciliar. (figuras 3, 5 y 6)

Aumenta el número y tamaño de los procesos ciliares cuyo eje, generalmente es perpendicular al orificio pupilar. (figura 6)

El cartilago escleral mantiene un espesor más o menos uniforme excepto en la zona que rodea la salida del nervio óptico, donde se engruesa formando un anillo. (figura 2)

El cambio de grosor entre retina visual y ciega (*pars terminalis retinae*), es más brusco que en los estadios anteriores, mientras que en la retina neurosensorial no se advierten cambios. (figuras 7 y 8)

La *pars ciliaris retinae* que tapiza los procesos ciliares tiene menos calibre que la *pars plana retinae*. La *pars iridae retinae* es difícil de identificar y cuando ello es posible, vemos que desaparece poco antes de llegar al borde del iris. (figuras 3 y 6)

El espesor del epitelio pigmentado varía según las zonas de la retina con las que se relaciona. El menor calibre lo presenta a nivel de la retina neurosensorial, se engruesa sobre la *pars plana retinae* y alcanza el mayor espesor en los procesos ciliares y el iris. (figuras 3 y 5 a 7)

En el pecten se observa que la aparición de las primeras inclinaciones coinciden con un aumento de longitud. (figura 9)

ESTADIO 26: EMBRION CT-100

Fig.2: Corte horizontal oblicuo. El cuerpo vítreo, aunque ligeramente plegado, ocupa por completo el interior del globo ocular. (BB, 2x)

Fig.3: Corte del segmento anterior donde destaca la perfecta sección de esfera que tiene la córnea. (BBV, 10x)

Fig.4: Detalle de la córnea. Se observa la membrana de Bowman y el incremento de grosor del epitelio. (BB, 40x)

Fig.5: Corte que incluye el ángulo irido-corneal y el esbozo del sistema de drenaje del humor acuoso. (BBV, 20x)

Fig.6: Detalle del iris y de los procesos ciliares. (BB, 20x)

Fig.7: Corte que muestra la membrana nictitante y la *pars terminalis retinae*. (BBV, 20x)

Fig.8: Detalle de la retina neurosensorial con todas sus capas y desprendida del epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Fig.9: Corte donde se observa la cabeza del nervio óptico y las primeras inclinaciones del pecten. (BB, 20x)

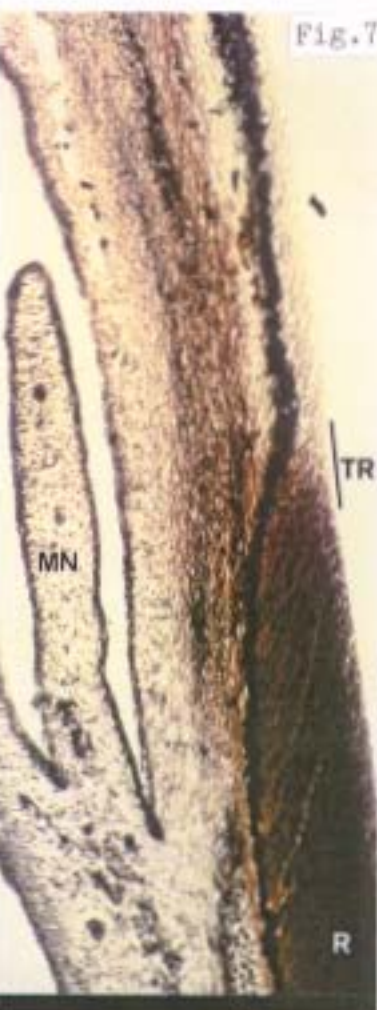
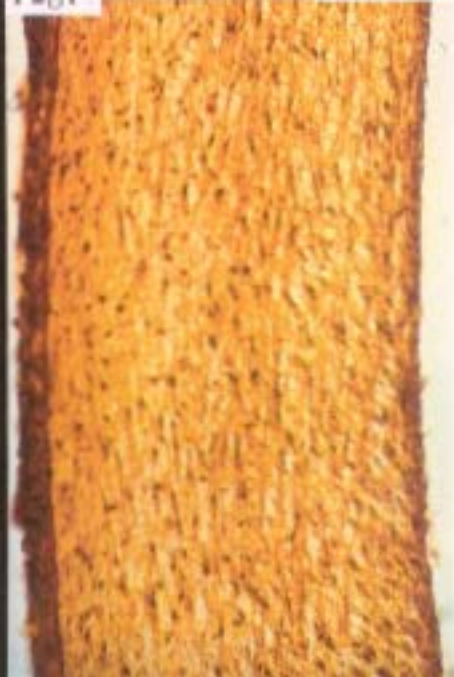
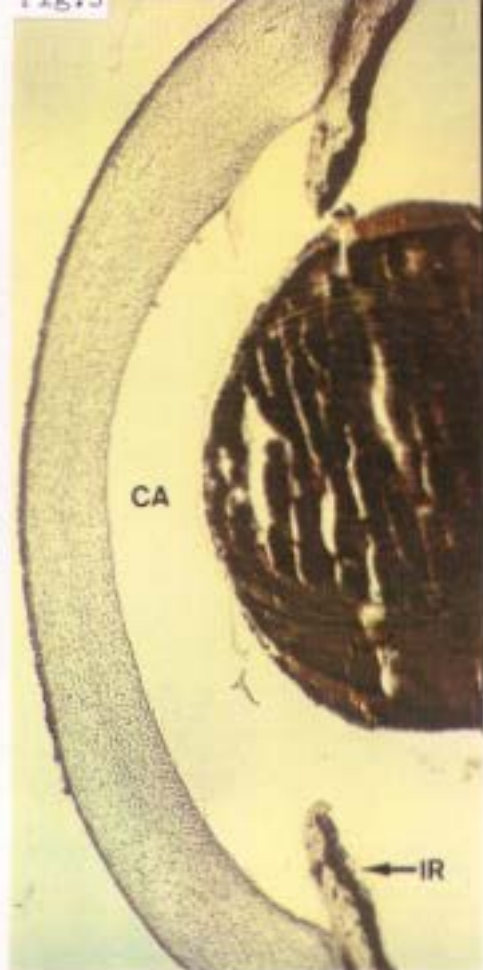


Fig.7

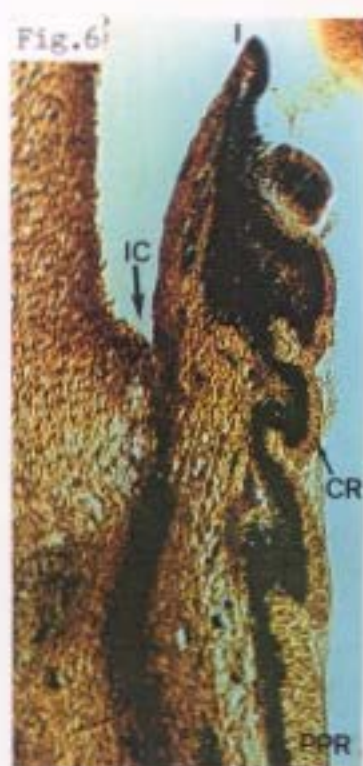


Fig.6

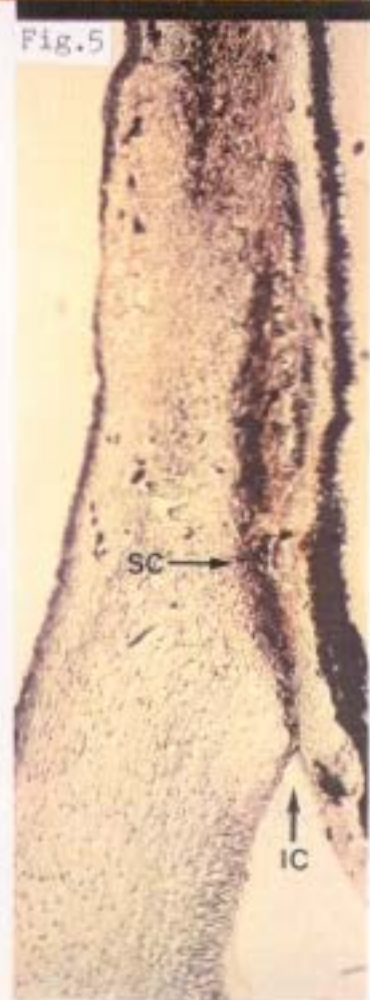


Fig.5



ESTADIO 27

ESTADIO 27: EMBRION CT-103

Fig.1: Visión lateral derecha donde se observan 3 y 4 filas de esbozos de plumas en el borde de los párpados, la pequeña hendidura palpebral y los orificios auditivo y nasal rodeados de esbozos de plumas. (1,8x)



ESTADIO 27

Estadio 27: 10 días de incubación.

Longitud del pico: 2,1-2,2 mm.

Ejemplo: Embrión CT-103: 10 días y 6 horas de incubación.

Longitud del pico: 2,3 mm.

Longitud del 3º dedo: 0,54 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

En algunas zonas del cuerpo aparece una ligera pigmentación difusa de la piel.

Hay un aumento de la pigmentación en los esbozos de las plumas en el abdomen, pecho, miembros superiores y en la cabeza. Unicamente quedan libres algunas zonas del cuello, alas y línea media anterior.

Aparecen esbozos de plumas, algunos pigmentados, alrededor de los orificios de los conductos auditivos externos y de las fosas nasales.

La hendidura palpebral se ha reducido de tamaño, ya que el párpado inferior cubre la mitad inferior de la córnea y el superior el tercio superior. La membrana nictitante se sitúa prácticamente en el borde anterior de la córnea.

Los esbozos de las plumas se distribuyen en tres y cuatro filas sobre el borde de los párpados. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

La superficie externa de los párpados, irregular por la presencia de los esbozos de las plumas, contrasta con la superficie interna lisa tapizada por tejido conjuntivo. (figura 2)

En los fondos de saco conjuntivales, sobre todo en el que forma el párpado con la membrana nictitante, se observa el drenaje de las glándulas tubulares que lubrican la conjuntiva y la córnea. (figura 4)

En la córnea aparecen pequeños nervios que transcurren sobre todo por el estroma superficial y que se dirigen hacia el epitelio introduciéndose en su espesor. Estos nervios sensitivos inervan el epitelio y parte del estroma superficial.

En el centro del estroma corneal observamos la banda de mayor celularidad que el resto y que parece dividir el estroma en dos partes, externa e interna. (figuras 2 y 3)

El sistema de drenaje del humor acuoso transcurre por la periferia corneal en toda su circunferencia. (figuras 2 y 4)

Las fibras secundarias del cristalino continúan diferenciándose a partir de las células de las regiones ecuatorial y preecuatorial del epitelio anterior, que son las únicas, en todo el epitelio, cuyos núcleos captan el colorante. (figura 2)

Existen varios detalles que confirman algunas observaciones hechas en estadios anteriores. La retina neurosensorial tiende a desprenderse del epitelio pigmentado, permaneciendo junto a él, únicamente a nivel de la retina ciega y alrededor de la salida del nervio óptico. (figuras 4

a 7)

Se acentúa el cambio brusco de espesor a nivel de la *pars terminalis retinae*, tanto en relación a la retina como al epitelio pigmentado. (figura 5)

Al desprenderse la retina del epitelio pigmentado, los artículos externos de los fotorreceptores, quedan libres y arrastran granos de pigmento entre ellos. (figura 6)

A nivel de la salida del nervio óptico vemos el entrecruzamiento de las fibras ópticas que lo componen. (figura 7)

En la base del pecten se acentúan los pliegues y en el extremo libre aumenta la pigmentación. (figura 7)

ESTADIO 27: EMBRION CT-103

Fig.2: Corte horizontal oblicuo del segmento anterior. En el epitelio anterior del cristalino los núcleos de las regiones ecuatorial y preecuatorial son los que han captado con más intensidad el colorante. (BBV, 10x)

Fig.3: Detalle de la córnea donde vemos que los nervios del estroma (flechas) se dirigen al epitelio. (BBV, 40x)

Fig.4: Corte que muestra el sistema de drenaje del humor acuoso y una glándula (flechas) en el fondo de saco que forman el párpado y la membrana nictitante. (BBV, 20x)

Fig.5: Detalle de la *pars terminalis retinae* con su epitelio pigmentado correspondiente. (BBV, 40x)

Fig.6: Detalle de la retina neurosensorial desprendida del epitelio pigmentado. Tras virar el corte, los fotorreceptores y parte de las neuronas de la capa nuclear externa conservan la tinción. (BBV, 40x)

Fig.7: Corte a nivel del pecten en cuya base vemos la entrada de los vasos y el pliegue (flecha). En el borde libre destaca la pigmentación. (BBV, 10x)



Fig.2



Fig.3

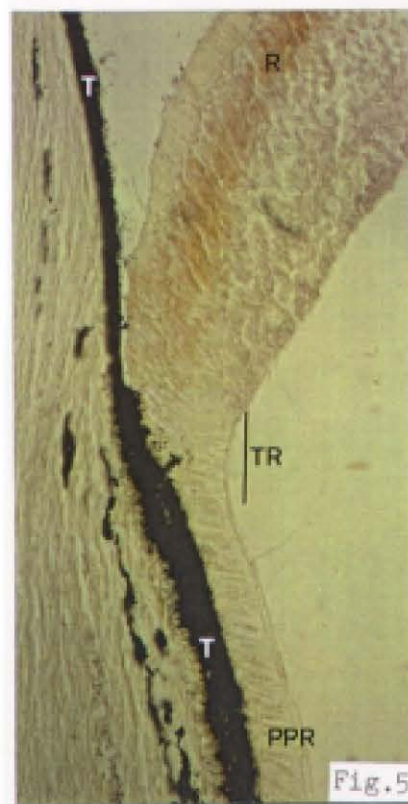


Fig.5

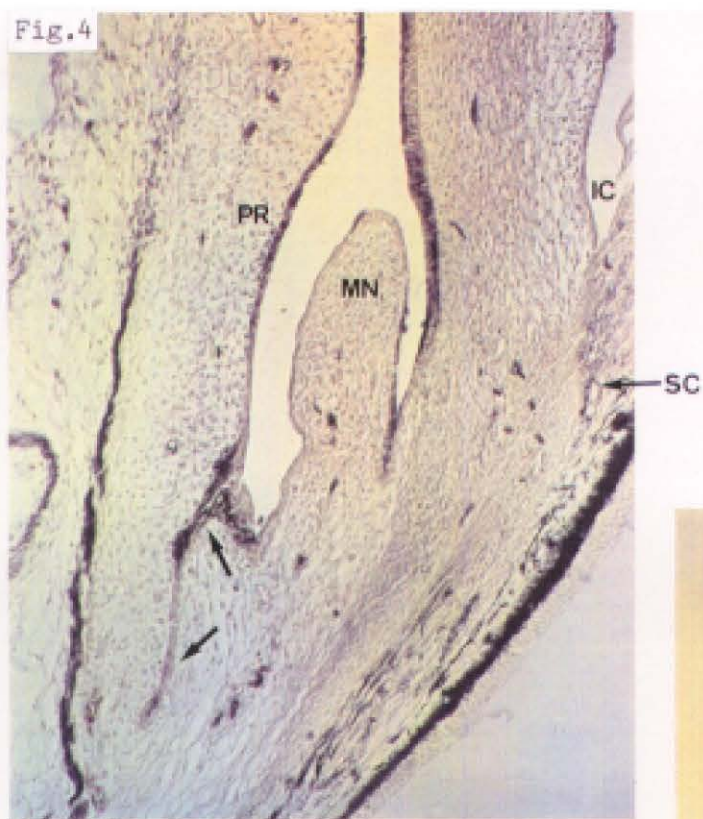
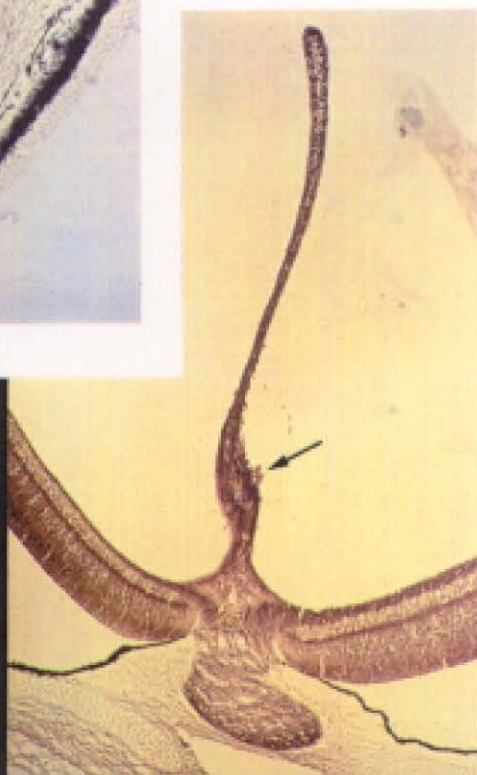


Fig.4



ESTADIO 28



ESTADIO 28: EMBRION CT-107

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza, parcialmente desplumada, donde vemos que los esbozos de las plumas son más largos y están más pigmentados. La hendidura palpebral es más estrecha. (1,5x)

ESTADIO 28

Estadio 28: 11 días de incubación.

Longitud del pico: 2,5-2,6 mm.

Ejemplo: Embrión CT-107: 11 días y 7 horas de incubación.

Longitud del pico: 2,6 mm.

Longitud del 3º dedo: 0,67 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Las papilas de la superficie plantar de las falanges están bien desarrolladas.

Prácticamente todo el embrión está cubierto por esbozos pigmentados de plumas. En la cabeza quedan las últimas zonas sin pigmentar.

La hendidura palpebral se ha reducido más de tamaño. El párpado inferior cubre aproximadamente los dos tercios inferiores de la córnea, por lo que sólo se ve el cuadrante antero-superior de la misma.

La membrana nictitante continúa en el borde anterior de la córnea. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El cuerpo vítreo presenta cada vez mayor consistencia, aunque aparezca desestructurado por el proceso histológico. (figuras 2 y 3)

En la superficie externa de los párpados, como en el resto de la piel de la cabeza, se observan las zonas de implantación de las plumas antes de quitarlas. (figuras 2 y 3)

Las fibras cristalinas y los núcleos de las células de las regiones ecuatorial y preecuatorial del epitelio anterior presentan una intensa coloración que contrasta con la palidez del resto del epitelio anterior. (figuras 2 y 3)

En el centro del estroma corneal observamos una banda densa situada más cerca del endotelio. El epitelio presenta dos capas perfectamente delimitadas, la capa basal con células en actividad (tinción más clara) y la externa con células que se van queratinizando (tinción más oscura). De hecho vemos como las más superficiales se descaman. (figuras 3 y 4)

La *pars terminalis retinae* es mucho más nítida y la transición ya no se realiza en una zona, sino en un punto. (figura 5)

En la retina neurosensorial que se mantiene unida al epitelio pigmentado se observan una serie de detalles interesantes. En la superficie externa, los artículos externos de los fotorreceptores se interdigitan con las células del epitelio pigmentado, lo que da un aspecto de empedrado.

Quizás el detalle más interesante se halla en el espesor de la retina. Vemos que la capa de fibras ópticas aparece ligeramente separada del resto. El punto exacto de separación está situado a nivel del trayecto perpendicular de los axones de las células ganglionares. Este detalle puede observarse también en algunas zonas de la retina que está desprendida del epitelio pigmentado. (figuras 5 a 7)

Entre el epitelio pigmentado y el cartílago escleral, observamos la coroides como una fina capa vascularizada. (figura 6)

El pecten ha experimentado importantes cambios. Los pliegues son mucho más pronunciados y numerosos y en su interior aparece gran cantidad de pigmento, que se localiza sobre todo en las paredes. Los dos o tres pliegues basales, surgen de la línea de cierre de la antigua fisura óptica y en el borde libre que es más grueso y tiene forma de botón o yema, el pigmento es muy escaso. (figura 7)

ESTADIO 28: EMBRION CT-107

Fig.2: Corte horizontal oblicuo en el que se observa el globo ocular en su conjunto. (BB, 2x)

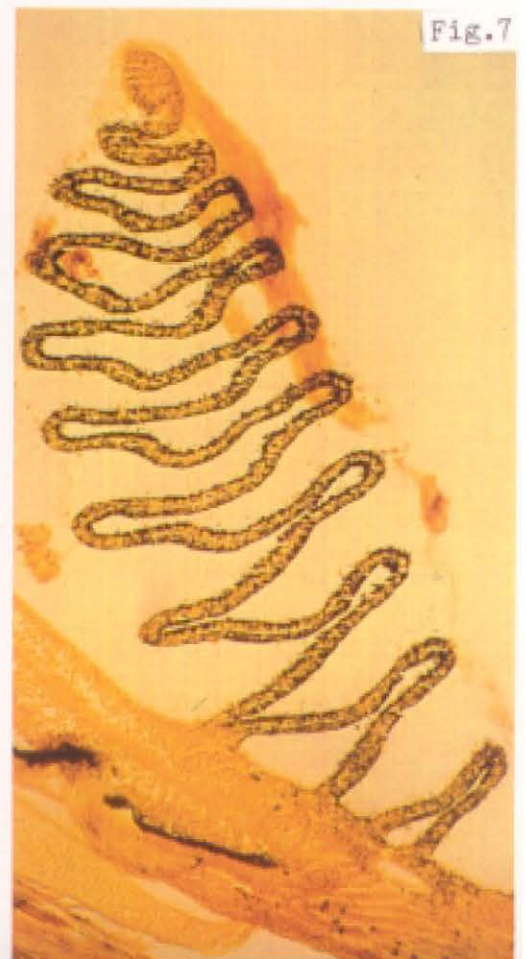
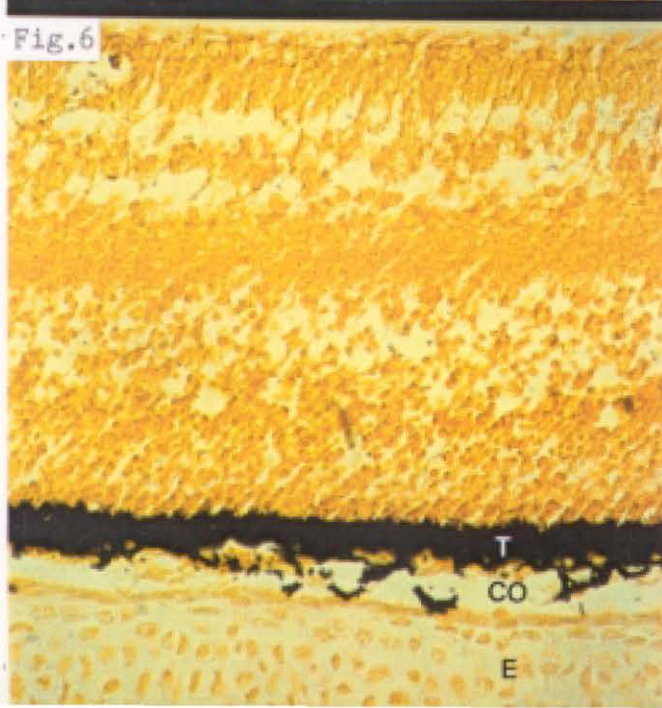
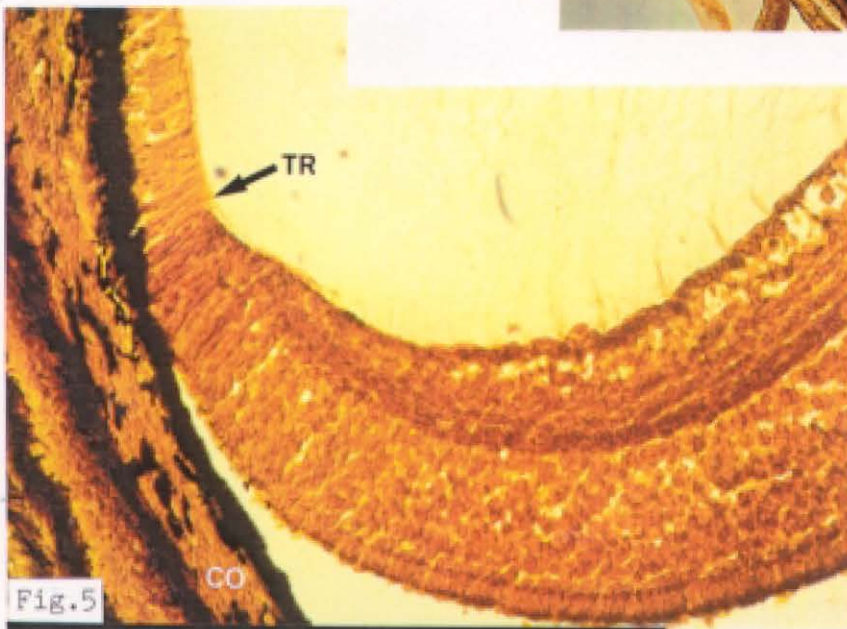
Fig.3: Detalle del segmento anterior. En el estroma corneal vemos una banda central densa que lo divide en dos. (BB, 4x)

Fig.4: En la córnea observamos que en el epitelio hay una capa superficial de células que se descaman y otra capa basal. Detalle de la banda estromal densa (flecha). (BB, 40x)

Fig.5: Detalle de la *pars terminalis retinae* y de cómo el epitelio pigmentado varía su calibre a ese nivel. (BB, 40x)

Fig.6: Detalle de la retina neurosensorial con la capa de fibras ópticas rota y separada del resto (flecha). Adyacente al epitelio pigmentado se localiza la fina capa coroidea. (BB, 40x)

Fig.7: Corte donde vemos la gran cantidad de pliegues que presenta el pecten. (BB, 10x)



ESTADIO 29

ESTADIO 29: EMBRION CT-111

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos que los párpados están casi cerrados y su borde libre inicia una ligera pigmentación (flechas). Los esbozos de plumas comienzan a tapar el orificio del conducto auditivo externo. (1,5x)

Fig.1



ESTADIO 29

Estadio 29: 12 días de incubación.

Longitud del pico: 2,8-3 mm.

Ejemplo: Embrión CT-111: 12 días y 6 horas de incubación.

Longitud del pico: 2,9 mm.

Longitud del 3º dedo: 0,82 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

La cornificación de las uñas es manifiesta.

Los esbozos pigmentados de las plumas son mucho más largos. Este detalle es más evidente en la cabeza.

El orificio del conducto auditivo externo está parcialmente tapado por los esbozos de las plumas.

El dorso del pico superior está más pigmentado.

A través de la estrecha hendidura palpebral sólo es posible ver una pequeña franja de córnea y parte del borde libre de la membrana nictitante.

En la zona media del borde de los párpados se inicia una ligera pigmentación. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El cartílago escleral llega a la altura de los procesos ciliares. (figura 2)

Los músculos oculares extrínsecos se insertan en la superficie externa del cartílago escleral y sus fibras transcurren paralelas a él. A ese nivel distinguimos filetes nerviosos.

Observamos que la coroides ha aumentado de espesor, en su interior discurren gran cantidad de vasos sanguíneos y el pigmento se distribuye de forma irregular. (figuras 4 y 5)

Se mantiene la banda densa en el centro del estroma corneal que lo divide en una porción externa, por donde transcurren los nervios sensitivos que inervan el estroma superficial y el epitelio y otra porción interna. (figura 3)

La mayor parte de la retina neurosensorial está en contacto con el epitelio pigmentado. En algunas zonas la capa de fibras ópticas esta separada del resto de la retina. Esta separación produce una rotura de los axones de las células ganglionares en su trayecto perpendicular a la retina. (figuras 2, 5 y 6)

En el espesor de los pliegues del pecten vemos pequeños vasos sanguíneos y gran cantidad de pigmento que se localiza, fundamentalmente, en las paredes.

Los últimos pliegues y el borde libre son más gruesos que el resto y presentan más pigmento que en estadios anteriores. En la base observamos un gran vaso sanguíneo. (figura 6)

ESTADIO 29: EMBRION CT-111

Fig.2: Corte horizontal oblicuo donde destacan los procesos ciliares y los pliegues del pecten. (BB, 2x)

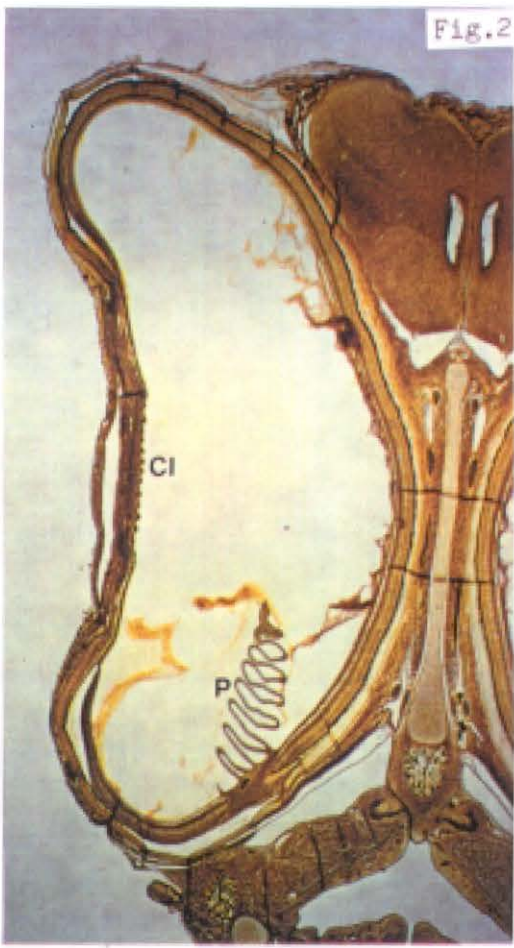
Fig.3: Detalle de la córnea. Algunas fibras nerviosas que transcurren por el estroma superficial penetran en el epitelio. (BB, 40x)

Fig.4: Corte que muestra la coroides entre el epitelio pigmentado y el cartilago escleral y externos a él, filetes nerviosos (flechas) y fascículos musculares de los músculos oculares extrínsecos. (BBV, 40x)

Fig.5: Detalle de las capas de la retina neurosensorial. La capa de fibras ópticas aparece separada del resto. (BB, 40x)

Fig.6: Corte del pecten en cuya base se encuentra un gran vaso sanguíneo (flecha) y donde vemos que los granos de pigmento se sitúan sobre todo en las paredes de los pliegues. (BB, 10x)

Fig.2



EP

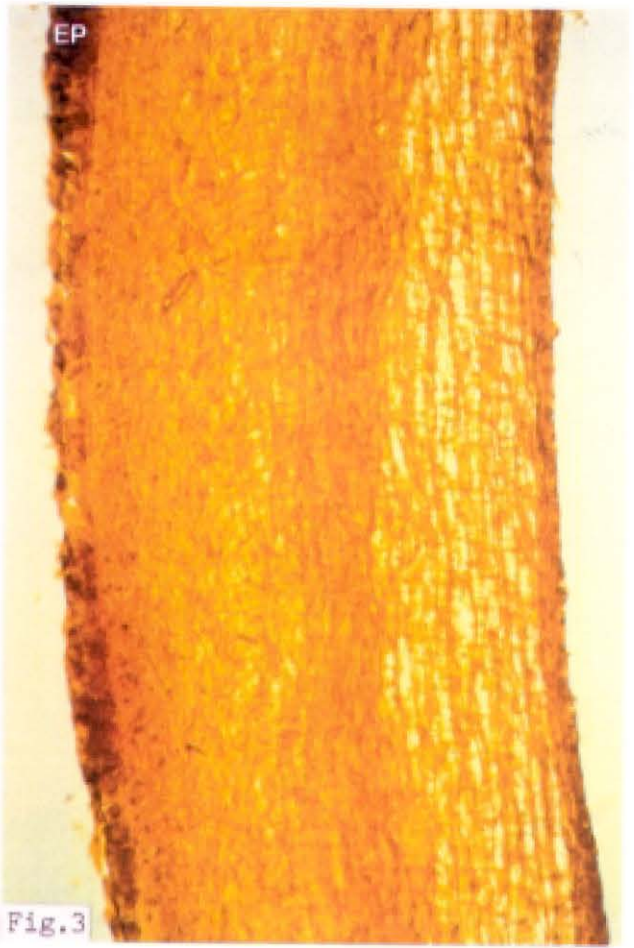


Fig.3

Fig.4

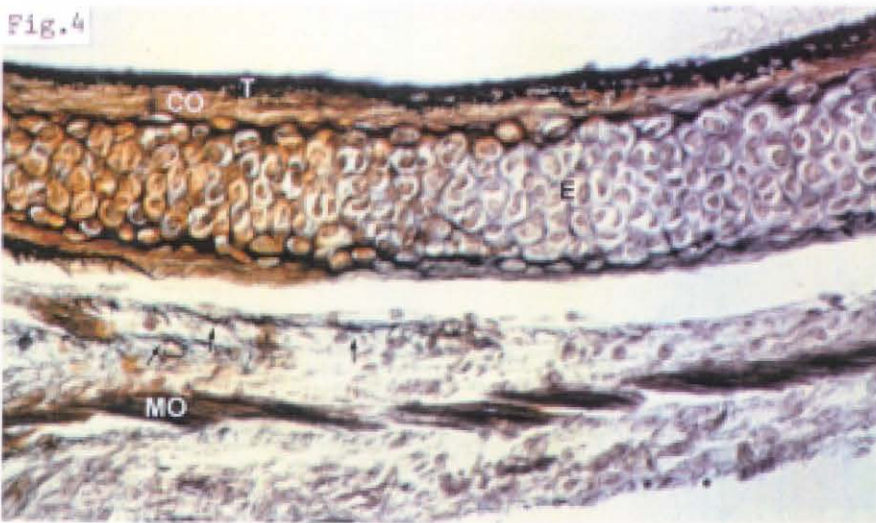


Fig.5

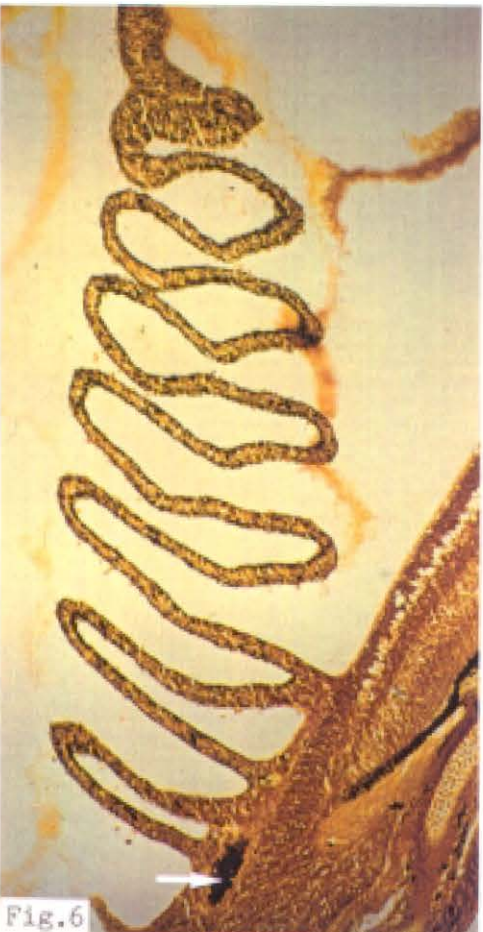
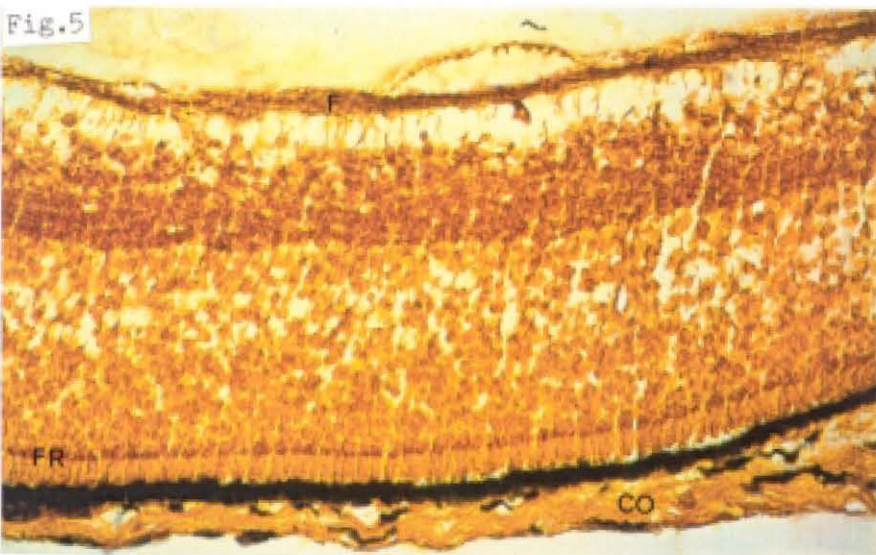


Fig.6

ESTADIO 30



ESTADIO 30: EMBRION CT-117

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza donde vemos que los párpados están prácticamente cerrados y sus bordes pigmentados (flechas). (1,5x)

ESTADIO 30

Estadio 30: 13 días de incubación.

Longitud del pico: 3,2 mm.

Ejemplo: Embrión CT-117: 13 días de incubación.

Longitud del pico: 3,2 mm.

Longitud del 3º dedo: 0,95 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Los esbozos de las plumas continúan creciendo por lo que en la cabeza tapan el orificio del conducto auditivo externo.

Los esbozos de las plumas que se encuentran en los párpados y alrededor de los orificios nasales no están pigmentados.

En los párpados, prácticamente cerrados, observamos con nitidez la pigmentación de los bordes.

El dorso del pico superior situado entre el diamante y los orificios nasales presentan una tonalidad más oscura.
(figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Observamos que los músculos oculares extrínsecos están perfectamente desarrollados, se insertan en el cartilago escleral y se distribuyen rodeando el globo ocular. (figuras 2 y 7)

Las fibras primarias del cristalino situadas en el centro, muestran una tonalidad más oscura que las fibras secundarias. Son visibles la mayoría de los núcleos celulares del epitelio anterior. (figura 3)

La hialoides vítrea está parcialmente adherida a la cápsula posterior del cristalino, mientras que sobre el epitelio anterior se observan restos del epitelio pigmentado del iris. (figuras 2 y 3)

En el estroma corneal se mantiene la banda densa que lo divide en dos partes. A través del estroma superficial vemos gruesos nervios sensitivos que terminan en el propio estroma y entre las capas basales del epitelio. (figuras 2 y 4)

No es posible demostrar la presencia de la *pars iridae retinae*. Por el contrario la *pars ciliaris retinae* tapiza el grueso epitelio pigmentado de los procesos ciliares. (figuras 3 y 7)

La retina neurosensorial va disminuyendo de espesor según se acerca a la *pars terminalis retinae*. A ese nivel, la capa limitante interna se desprende de la retina visual, estando unida a la hialoides vítrea. (figura 5)

Queremos insistir en un detalle ya comentado, la rotura de la capa de fibras ópticas. En este embrión podemos comprobar cómo esta capa está más separada del resto de la

retina. Observamos que la rotura se ha producido a la salida de los axones. (figuras 2 y 5 a 7)

En el pecten podemos contar entre 18 y 21 pliegues que ocupan gran parte de la cavidad vítrea. En su interior observamos gran cantidad de vasos sanguíneos que hacen relieve en la pared de los pliegues ya que su diámetro es mayor que el de éstos. El pigmento se concentra, sobre todo, en la pared de los pliegues. (figura 7)

11. 11. 11

11. 11. 11

11. 11. 11

11. 11. 11

ESTADIO 30: EMBRION CT-117

Fig.2: Corte horizontal oblicuo. Observamos como los músculos oculares extrínsecos se insertan en el cartílago escleral y rodean el globo ocular. (BBV, 2x)

Fig.3: Detalle del cristalino que muestra como las fibras primarias, situadas en el centro, han captado más el colorante. (BB, 10x)

Fig.4: Detalle de la córnea donde vemos el recorrido de un nervio por el estroma superficial y una terminación nerviosa en el epitelio (flecha). (BB, 40x)

Fig.5: Corte a nivel de la *pars terminalis retinae*. La capa limitante interna aparece parcialmente desprendida. (BB, 40x)

Fig.6: Detalle de la retina neurosensorial unida al epitelio pigmentado, que muestra la separación de la capa de fibras ópticas. (BB, 40x)

Fig.7: Corte del pecten donde distinguimos aproximadamente 20 pliegues. (BBV, 4x)

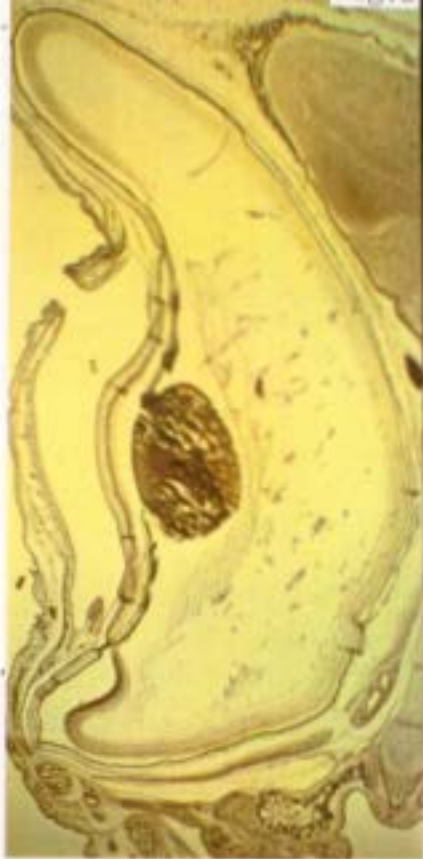
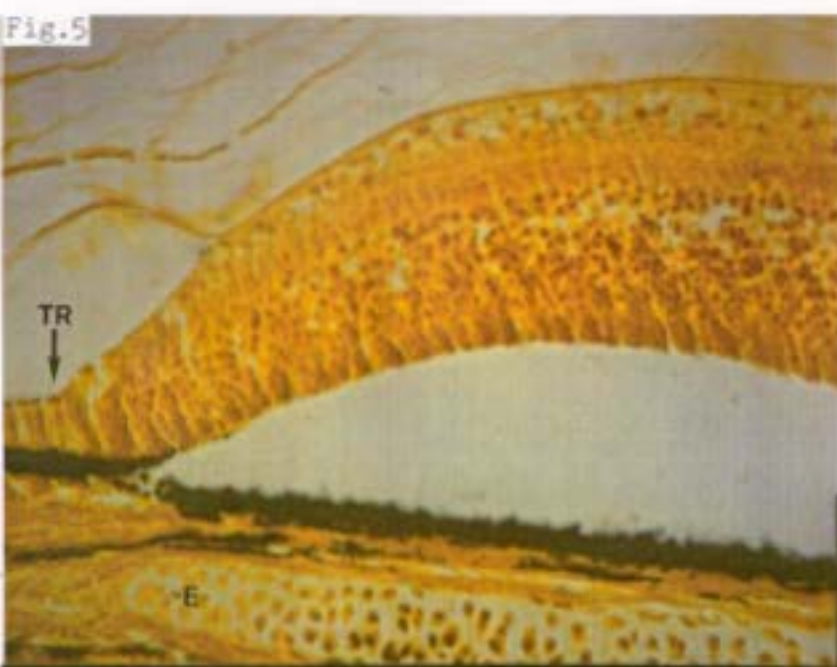


Fig. 4



ESTADIO 31

ESTADIO 31: EMBRION CT-121

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos los párpados cerrados y la mayor pigmentación del dorso del pico superior (flechas). El diamante es muy prominente. (1,3x)



ESTADIO 31

Estadio 31: 14 días de incubación.

Longitud del pico: 3,4 mm.

Ejemplo: Embrión CT-121: 14 días y 6 horas de incubación.

Longitud del pico: 3,3 mm.

Longitud del 3º dedo: 1,08 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Las uñas de las patas son duras y están cornificadas. En la cabeza destaca la mayor pigmentación de los esbozos de las plumas y del dorso del pico superior. El diamante es más prominente que en estadios anteriores.

Parece que han crecido los esbozos de las plumas de los párpados.

La hendidura palpebral está totalmente cerrada. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El cuerpo vítreo alterado por el proceso histológico se concentra sobre la cápsula posterior del cristalino, la capa limitante interna, la retina ciega y alrededor de los pliegues del pecten. (figuras 2 y 4 a 6)

En el estroma corneal la banda central se hace más tenue y aún podemos diferenciar un estroma superficial y profundo.

Las células superficiales del epitelio corneal se van descamando, mientras las células de la capa basal continúan proliferando. (figuras 2 y 3)

No observamos la *pars iridae retinae*; sin embargo, las células de la *pars ciliaris retinae* se encuentran perfectamente ordenadas sobre el epitelio pigmentado. (figura 2)

En la retina neurosensorial no se observan cambios morfológicos; pero queremos destacar que en algunas zonas, parte de las células ganglionares acompañan a las fibras ópticas desprendidas. (figuras 4 y 6)

A nivel de la *pars terminalis retinae*, las primeras células en desaparecer son las ganglionares y las últimas los fotorreceptores. (figura 5)

La coroides que mantiene un desarrollo similar al de otros estadios, presenta gran cantidad de pigmento. (figuras 4 y 5)

En el pecten disminuye el diámetro de los pliegues, por lo que los vasos sanguíneos hacen más relieve. El borde libre es más grueso y el pigmento se distribuye de forma homogénea. (figura 6)

ESTADIO 31: EMBRION CT-121

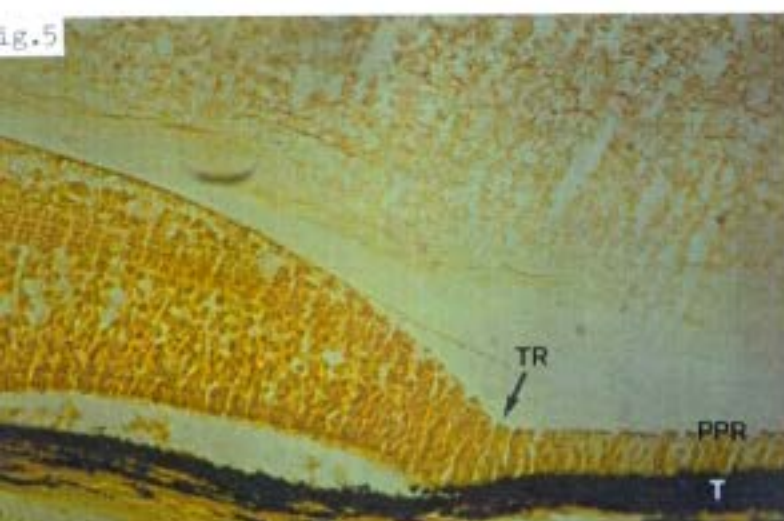
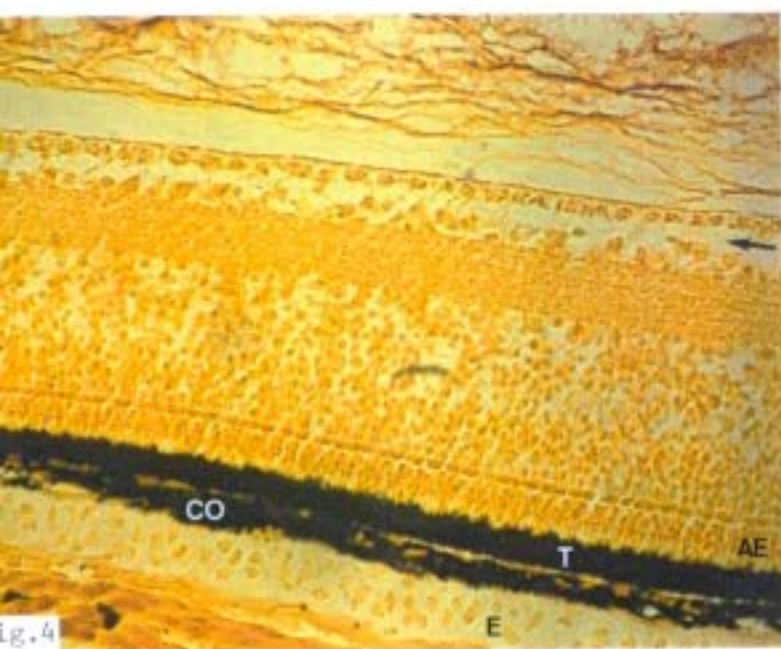
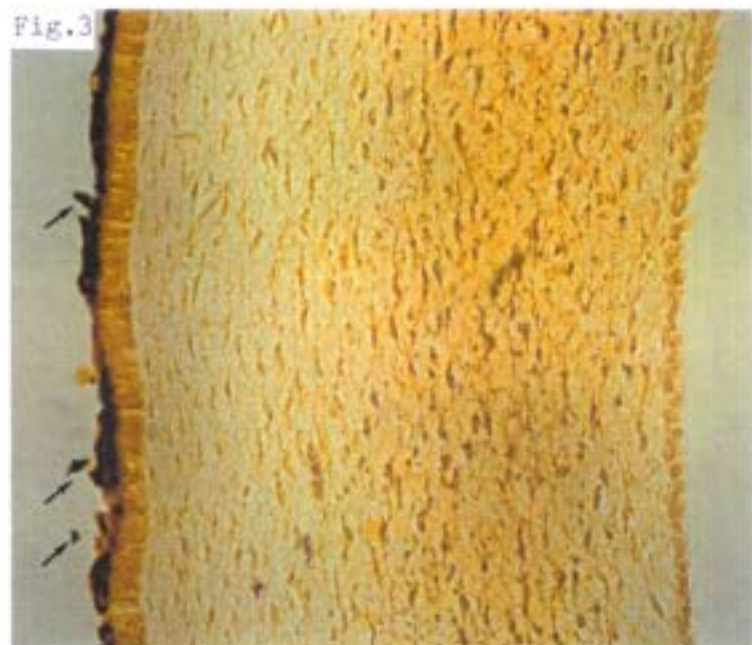
Fig.2: Corte horizontal oblicuo. El cuerpo vítreo alterado se concentra en la hialoides vítrea. La córnea presenta una tinción homogénea en su estroma. (BB, 4x)

Fig.3: Detalle de la córnea donde vemos que la banda densa del estroma va desapareciendo. Las células superficiales del epitelio se descaman (flechas). (BB, 40x)

Fig.4: Detalle de la retina neurosensorial que muestra la separación de parte de las células ganglionares (flecha). (BB, 40x)

Fig.5: Detalle de la *pars terminalis retinae* donde observamos que las últimas células en desaparecer son los fotorreceptores. (BB, 40x)

Fig.6: Corte a nivel del pecten donde vemos que los pliegues han disminuido de espesor y se han elongado. (BB, 4x)



ESTADIO 32

Fig.1



ESTADIO 32: EMBRION CT-129

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos la pigmentación de la piel, del borde de los párpados completamente cerrados (flechas) y del dorso del pico superior. (1,3x)

ESTADIO 32

Estadio 32: 15 días de incubación.

Longitud del pico: 3,4 mm.

Ejemplo: Embrión CT-129: 15 días de incubación.

Longitud del pico: 3,4 mm.

Longitud del 3º dedo: 1,23 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

La yema del huevo se encuentra prácticamente dentro del abdomen del embrión.

Los párpados continúan cerrados y con el borde muy pigmentado.

La pigmentación también es muy evidente en la piel y en el dorso del pico, que contrasta con el color blanquecino del diamante. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

No observamos cambios importantes que caractericen a este estadio por lo que, de algún modo, comprobaremos detalles vistos anteriormente.

Los músculos oculares extrínsecos se insertan en el cartílago escleral, completamente osificado. (figura 2)

El epitelio corneal presenta un aspecto homogéneo (figura 4), aunque en algunas zonas la capa superficial de células queratinizadas se descama. (figura 2)

En el estroma corneal vemos restos de la banda central, mientras que en el tercio externo se observa mayor densidad de queratocitos. (figuras 2 y 4)

La zona central del epitelio anterior del cristalino es muy delgada, sobre todo si se compara con las regiones ecuatorial y preecuatorial. Las fibras cristalinianas muestran una perfecta ordenación. (figuras 2 y 3)

El epitelio pigmentado del iris tiene tendencia a pegarse al epitelio anterior del cristalino por lo que en algunas zonas se rompe. (figura 3)

En la retina neurosensorial comprobamos lo que veíamos en el estadio anterior; es decir, que la capa de células ganglionares está dividida. Esta separación es mayor donde la retina está unida al epitelio pigmentado. (figuras 5 a 7)

En las zonas donde el epitelio pigmentado está ligeramente separado de la retina, podemos identificar perfectamente los artículos externos de los fotorreceptores. (figura 6)

La *pars terminalis retinae* coincide con el cambio de espesor del epitelio pigmentado . (figura 5)

Se distingue claramente la *pars ciliaris retinae* formando parte del cuerpo ciliar. (figura 7)

El pecten no presenta cambios. La mayor pigmentación que observamos en los pliegues más distales se debe a que el corte histológico comprende exclusivamente la pared de estos, y en esa zona se concentra la mayor cantidad de pigmento. (figura 7)

ESTADIO 32: EMBRION CT-129

Fig.2: Corte horizontal oblicuo donde observamos todas las estructuras del globo ocular. Las fibras primarias del cristalino muestran un color diferente al de las fibras secundarias. (BBV, 2x)

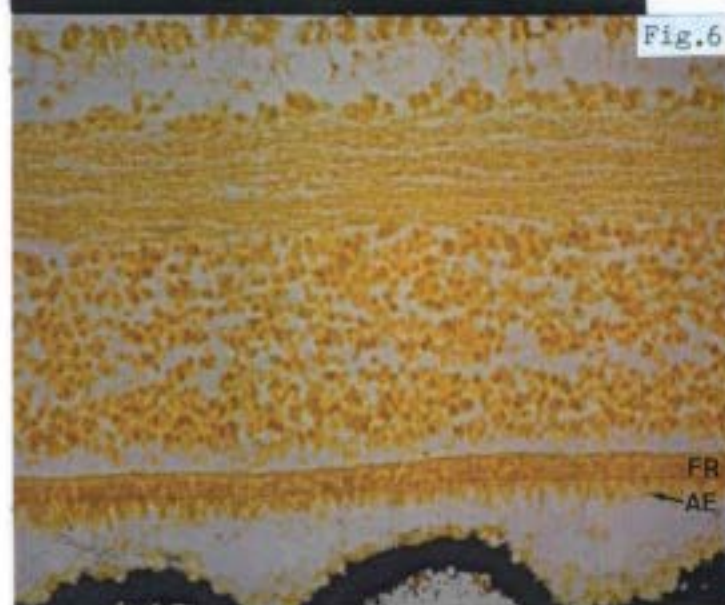
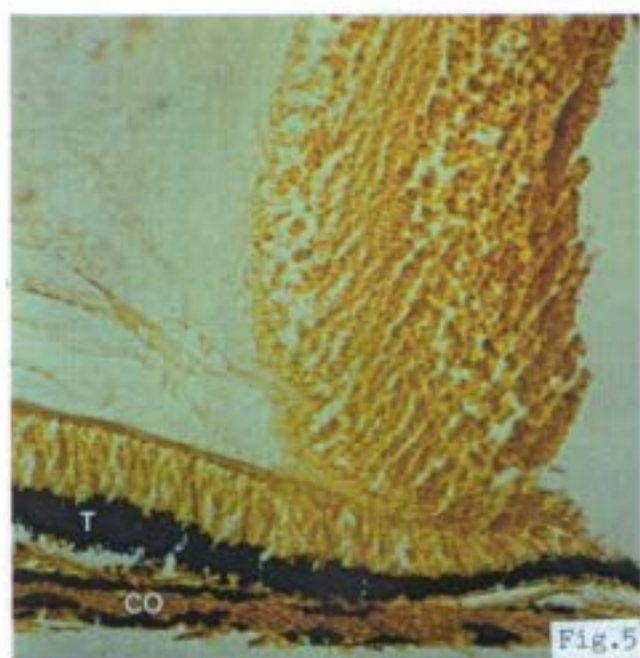
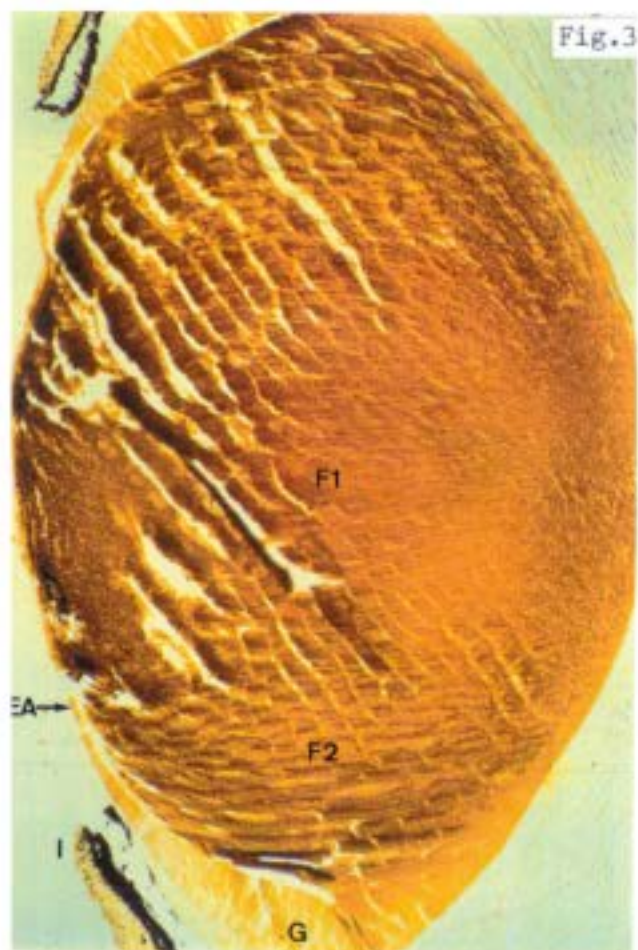
Fig.3: Detalle del cristalino. Destaca la perfecta ordenación de las fibras cristalinianas. (BB, 10x)

Fig.4: Corte de la córnea donde observamos que en el tercio externo del estroma existe mayor densidad de queratocitos (flecha). (BB, 20x)

Fig.5: Detalle de la *pars terminalis retinae* y del cambio de espesor del epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Fig.6: Detalle de la retina neurosensorial, donde se identifican perfectamente los artículos externos de los fotorreceptores. (BB, 40x)

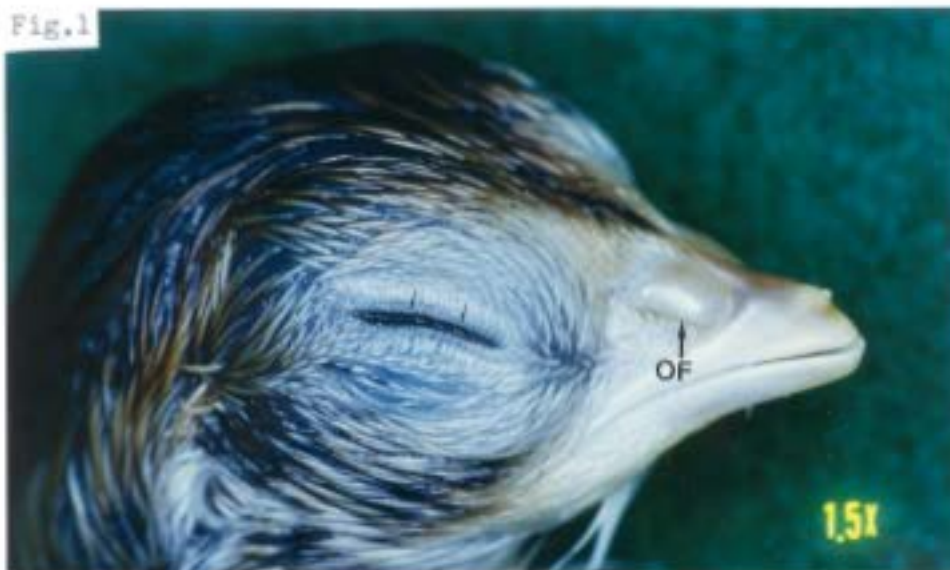
Fig.7: Detalle del pecten donde destaca la pigmentación de los pliegues distales debido a la dirección del corte. (BB, 4x)



ESTADIO 33

ESTADIO 33: EMBRION CT-133:

Fig.1: Visión lateral derecha. Vemos los párpados cerrados y sus bordes con una intensa pigmentación negra. El diamante comienza a pigmentarse. (1,5x)



ESTADIO 33

Estadio 33: 16 días de incubación. Momento de la apertura del huevo (eclosión).

Ejemplo: Embrión CT-133: 16 días de incubación. El embrión comienza a romper el huevo.

Longitud del 3º dedo: 1,35 cm.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

La codorniz está perfectamente desarrollada.

El borde de los párpados presenta una pigmentación negra muy intensa.

El dorso del pico superior es más oscuro que en el estadio anterior y el diamante comienza a pigmentarse.

Los orificios nasales continúan cerrados. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El ojo está completamente desarrollado.

En el espesor de los párpados se encuentran los sistemas musculares de apertura y cierre. (figura 2)

En la córnea nos encontramos una serie de cambios. El epitelio incrementa el número de capas celulares, por lo que aumenta de espesor. Las células epiteliales tienen una morfología cilíndrica en la capa basal, cúbica en la zona media y plana en la superficie externa.

El estroma corneal presenta un aspecto homogéneo al desaparecer la banda oscura. Destaca la mayor densidad de queratocitos en su tercio externo.

El endotelio tiene una sola hilera de células planas y perfectamente ordenadas.

Con este método de tinción es difícil demostrar la presencia de las membranas de Bowman y de Descemet; a veces se ve una línea de separación entre epitelio y estroma que corresponde a la membrana de Bowman. (figuras 2 y 3)

En los márgenes de la córnea existe una red vascular, semejante al canal de Schlemm, encargada de evacuar el humor acuoso que atraviesa el ángulo irido-corneal. (figura 2)

Cuando se realiza la transición entre retina visual y ciega (*pars terminalis retinae*), parece que las células ganglionares son las primeras en desaparecer, mientras que las células de las capas nuclear interna (bipolares, horizontales y amacrinas) y nuclear externa (fotorreceptores) son las últimas.

La *pars plana retinae* de la retina ciega tiene una sola hilera de células. (figura 4)

Tanto la superficie externa de todo el epitelio pigmentado, como la interna a nivel de la retina ciega presentan un aspecto más o menos liso y uniforme; en cambio la superficie interna del epitelio pigmentado que se relaciona con la retina neurosensorial ha cambiado en relación a los estadios anteriores. Aquí muestra gran cantidad de interdigitaciones en las que se introducen los artículos externos de los fotorreceptores. (figura 5)

El pecten también está completamente desarrollado y en el espesor de sus pliegues observamos gran cantidad de pigmento y de vasos sanguíneos que hacen más relieve que en estadios anteriores. (figura 6)

ESTADIO 33: EMBRION CT-133

Fig.2: Corte horizontal del segmento anterior donde se observa con claridad la musculatura palpebral (flecha). En los márgenes de la córnea se encuentra el sistema de drenaje del humor acuoso. (BB, 4x)

Fig.3: Detalle de la córnea donde destacan los queratocitos inmersos en la trama de colágeno estromal; en su tercio externo la densidad de queratocitos es mayor (flecha). (BB, 40x)

Fig.4: Detalle de la *pars terminalis retinae*. (BB, 40x)

Fig.5: Detalle de la retina neurosensorial y epitelio pigmentado, donde se observan las interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y el epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Fig.6: Corte que muestra los procesos ciliares y los pliegues del pecten. (BB, 4x)

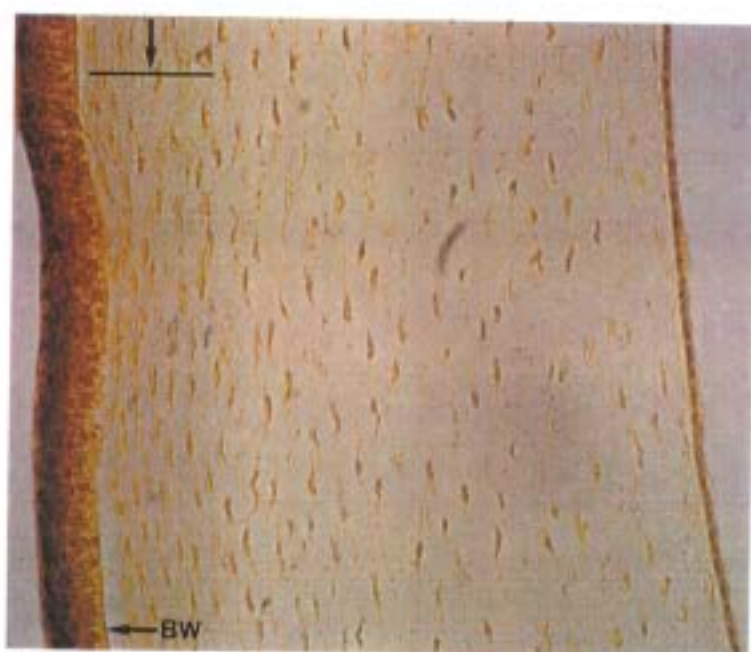


Fig.3



Fig.5



ESTADIO 1+

Fig.1



ESTADIO 1+: EMBRION CT-136

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos la gran pigmentación del borde de los párpados (flechas). Destaca que la hendidura palpebral y el orificio de las fosas nasales están abiertos. (1,3x)

ESTADIO 1+

Ejemplo: Embrión CT-136: 24 horas posteclosión.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

La hendidura palpebral ya está abierta y a través de ella observamos parcialmente la córnea y la membrana nictitante.

Las plumas del párpado superior comienzan a pigmentarse y el reborde palpebral presenta un color negro muy intenso.

En general vemos que en las regiones donde las plumas todavía eran blancas, éstas adquieren una ligera pigmentación ocre; por ejemplo, las plumas inferiores y laterales del pico inferior y las que se encuentran entre los ojos y entre los orificios nasales.

Por último queremos destacar que los orificios de las fosas nasales están abiertos. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El borde libre de los procesos ciliares centrales contactan con la región ecuatorial del epitelio anterior del cristalino y la superficie interna del iris está tan adherida a la región preecuatorial del epitelio anterior cristaliniano que durante el proceso histológico estas estructuras permanecen unidas a expensas de la rotura del ángulo irido-corneal, que en algunos puntos deja al descubierto el sistema de drenaje del humor acuoso. (figura 2)

No podemos estudiar las fibras zonulares porque su frágil estructura hace que el proceso histológico las destruya.

La córnea presenta una perfecta ordenación y estructuración de cada una de sus capas. En el estroma superficial es mayor la población de queratocitos. (figuras 2 y 3)

La coroides, más gruesa que en estadios anteriores y con gran cantidad de pigmento, está rodeada por el cartílago escleral completamente osificado. (figuras 4 y 5)

Como es habitual en los últimos estadios, la retina ciega permanece en contacto con el epitelio pigmentado hasta la *pars terminalis retinae*; a partir de ese punto la retina visual normalmente está separada. (figura 4)

Existe un detalle en la superficie externa de la retina neurosensorial que ya veíamos en el estadio 33 y que aquí se hace mucho más evidente. Las interdigitaciones entre el epitelio pigmentado y los artículos externos de los fotorreceptores son más numerosas y se hacen más pronunciadas. (figura 5)

Los pliegues del pecten presentan gran cantidad de pigmento; este hecho es más evidente en el borde libre. - Otra característica a destacar, es el gran aporte sanguíneo que tiene, con vasos de gran calibre que hacen relieve en las paredes. (figura 6)

ESTADIO 1+: EMBRION CT-136

Fig.2: Corte horizontal oblicuo del segmento anterior. Por el estroma superficial transcurre un nervio (flecha). El párpado superior presenta un gran espesor y observamos que el ángulo irido-corneal está roto, debido a la unión entre el epitelio pigmentado del iris y el epitelio anterior del cristalino. (BB, 4x)

Fig.3: Detalle de la perfecta ordenación de las capas de la córnea. En el estroma superficial existe mayor cantidad de queratocitos (flecha). (BB, 40x)

Fig.4: Detalle de *pars terminalis retinae*; en esa zona el vítreo se adhiere con firmeza (flecha). Observamos el gran calibre de la coroides y la estructura ósea de la esclera. (BB, 40x)

Fig.5: Corte que muestra la gran interdigitación que existe entre los artículos externos de los fotorreceptores y el epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Fig.6: Detalle del pecten, en cuyos pliegues destaca el número y tamaño de los vasos sanguíneos (flechas) y la cantidad de pigmento. (BB, 10x)

Fig.2

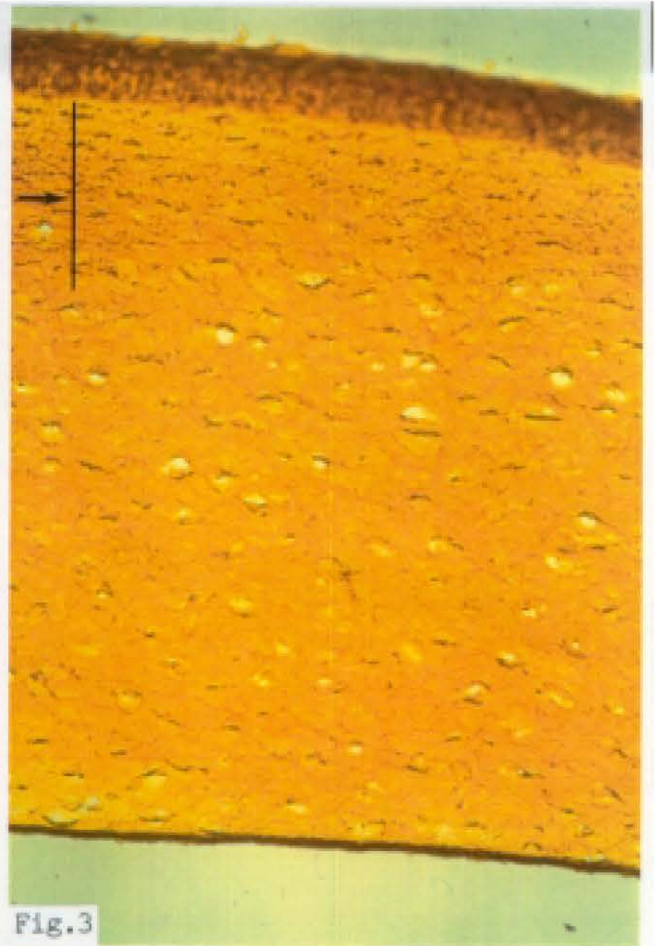


Fig.3

Fig.4



CO

E

Fig.5

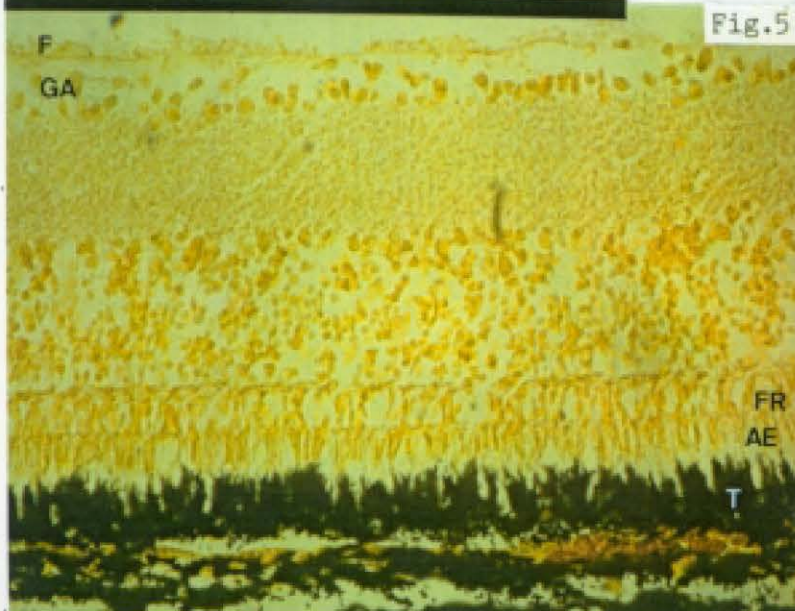


Fig.6



ESTADIO 2+

ESTADIO 2+: EMBRION CT-145

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos la mayor pigmentación de las plumas situadas en los párpados y en las zonas lateral e inferior del pico inferior. (1,2x)



ESTADIO 2+

Ejemplo: Embrión CT-145: 48 horas posteclosión.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

Hay pocas diferencias en comparación con el estadio anterior. A la única que podemos referirnos es al aumento de pigmentación, que es visible en el dorso del pico superior y en las plumas de los párpados y de las regiones inferiores y lateral del pico inferior.

La situación de la membrana nictitante es completamente aleatoria, pues depende de la posición que quedó tras la anestesia previa a la fijación. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

A los dos días de la eclosión no se observan cambios significativos en las estructuras oculares. De todas formas vamos a comentar algunos detalles que en algunos casos ya han sido descritos.

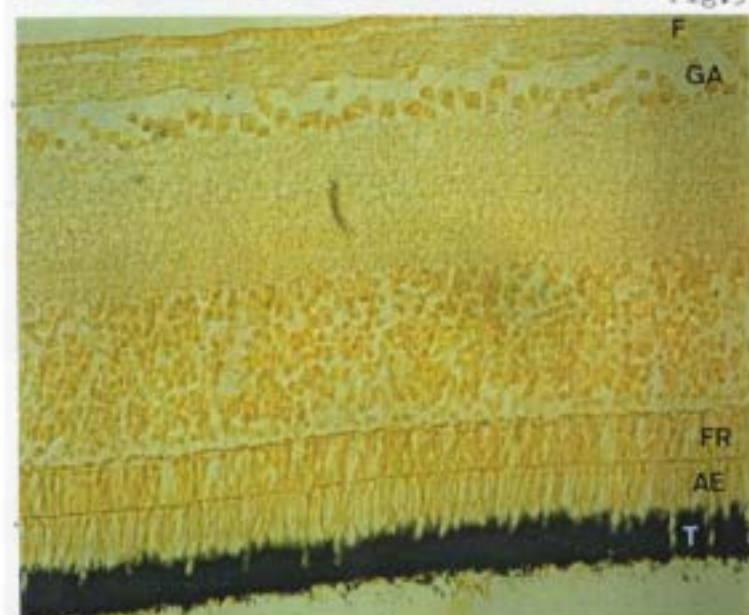
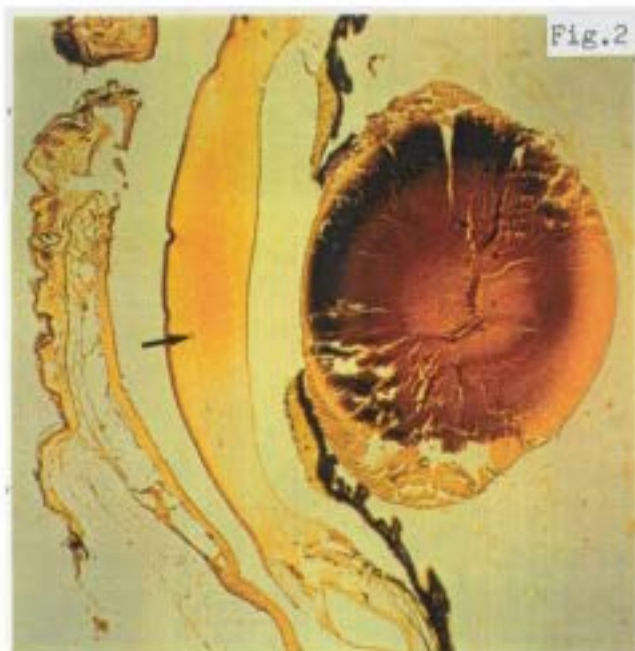
La unión entre el iris y los procesos ciliares centrales con el epitelio anterior del cristalino, provoca que se rompa la raíz del iris. (figura 2)

En la córnea las células originadas en la capa basal van desplazándose hacia la superficie, donde se descaman. (figuras 2 y 3)

Es curioso observar que parte de la retina ciega, la que se continúa con la retina neurosensorial, acompaña a ésta última cuando se separa del epitelio pigmentado. (figura 4)

En la retina neurosensorial se mantienen las interdigitaciones entre fotorreceptores y células del epitelio pigmentado que veíamos en el estadio anterior. (figura 5)

En la base del pecten observamos la presencia de vasos sanguíneos de los que parte la vascularización de los pliegues del pecten. (figura 6)



ABREVIATURAS CONTROLES

AC.....	Aurícula cardiaca
AE.....	Artículos externos de los fotorreceptores
BB(V)...	Bielchowsky en bloque (Virado)
BC.....	Bulbus cordis
BP.....	Pico superior pigmentado
BW.....	Membrana de Bowman
CA.....	Cámara anterior
CB.....	Cerebelo
CI.....	Procesos ciliares
CM.....	Canal medular
CO.....	Coroides
CR.....	<i>Pars ciliaris retinae</i>
D.....	Diamante del pico
DC.....	Diencéfalo
DS.....	Membrana de Descemet
E.....	Esclera. Cartílago escleral
EA.....	Epitelio anterior del cristalino
ED.....	Ectodermo
EF.....	Epífisis
EN.....	Endotelio corneal o esbozo
EP.....	Epitelio corneal o esbozo
ES.....	Estrato acelular de la córnea. Estroma corneal
F.....	Capa de fibras ópticas de la retina
F1.....	Fibras primarias del cristalino
F2.....	Fibras secundarias del cristalino
FL.....	Fosa cristaliniana
FO.....	Fisura óptica (línea de cierre)
FR.....	Fotorreceptores
G.....	Ecuador del cristalino
GA.....	Células ganglionares
HC.....	Hematoxilina de Carazzi
I.....	Iris o esbozo
II.....	Segundo arco branquial
III.....	Tercer arco branquial
IC.....	Angulo irido-corneal o esbozo
IR.....	<i>Pars iridae retinae</i>
IV.....	Cuarto ventrículo
JP.....	Esbozo pigmentado de plumas
L.....	Cristalino o esbozo
LD.....	Lámina digital
LI.....	Capa limitante interna de la retina
M1.....	Primera oleada mesodérmica
M2.....	Segunda oleada mesodérmica
MC.....	Mesencéfalo
MD.....	Mesodermo
MI.....	Miembro inferior
MN.....	Membrana nictitante
MO.....	Músculos oculares extrínsecos
MS.....	Miembro superior. Ala

PM.....Proceso mandibular
 PO.....Pediculo óptico
 PP.....Pared distal de la vesícula cristaliniana
 PR.....Párpados
 PX.....Proceso maxilar
 PPR.....*Pars plana retinae*
 R.....Pared distal de la vesícula óptica primaria (7-12)
 Capa interna de la vesícula óptica secundaria (13-16)
 Retina neurosensorial (17-2+)
 RB.....Retina ciega
 RC.....Rombencéfalo
 SC.....Canal de Schlemm (sistema de drenaje humor acuoso)
 SV.....Seno venoso
 T.....Pared proximal de la vesícula óptica primaria (7-12)
 Capa externa de la vesícula óptica secundaria (13-16)
 Epitelio pigmentado (17-2+)
 TC.....Vesículas telencefálicas. Telencéfalo
 TO.....Tectum óptico
 TR.....*Pars terminalis retinae*
 V.....Cuerpo vítreo o esbozo
 V1.....Vesícula óptica primaria
 V2.....Vesícula óptica secundaria
 VA.....Vesícula ótica
 VC.....Ventrículo cardiaco
 VD.....Ventrículo diencefálico
 VL.....Vesícula cristaliniana
 VO.....Ventrículo óptico

1.2. RESUMEN

Para facilitar el seguimiento hemos realizado un resumen de los resultados de los embriones control que dividiremos en dos apartados.

En el primero aparece el desarrollo de las estructuras oculares más significativas y en el segundo los acontecimientos más importantes que tienen lugar en cada estadio.

Entre los estadios 24 a 33 Z, incluimos la longitud del tercer dedo del miembro inferior derecho de los embriones control que se escogieron para la descripción. Este dato (media aritmética) es orientativo pues no ha sido estadísticamente comprobado, si bien hemos querido mencionarlo porque aunque no aparece en el trabajo de ZACCHEI (1961); sí que es utilizado como parámetro en el embrión de pollo por HAMBURGER y HAMILTON (1951).

RETINA

El desarrollo de la retina se inicia en el estadio 11 Z, cuando la vesícula óptica primaria está en íntimo contacto con la placoda cristaliniana. Desde ese momento se observa que la pared distal es más gruesa que la proximal.

Esta diferencia de espesor se incrementa durante la invaginación de ambas estructuras y continúa aumentando a lo largo del desarrollo.

La luz del ventrículo óptico desaparece entre los estadios 16 y 17 Z, aunque en ocasiones quedan algunos restos en los bordes de la vesícula óptica.

En el estadio 18 Z se distingue claramente la capa de fibras ópticas. Con la tinción Hematoxilina de Carazzi no se observa ninguna otra capa en el espesor de la retina, aunque existe mayor densidad celular en la mitad interna.

Hasta el estadio 24 Z no se distinguen con nitidez todas las capas de la retina neurosensorial, incluidos los artículos externos de los fotorreceptores.

Los artículos externos de los fotorreceptores se introducen entre las células del epitelio pigmentado, adoptando una morfología uniforme; pero en el estadio 33 Z y sobre todo tras la eclosión, se observan grandes interdigitaciones con aspecto de "sierra" entre ambas estructuras, que indican la presencia del estímulo luminoso sobre la retina.

Al principio, la transición entre retina neurosensorial y retina ciega (*pars terminalis retinae*) se realiza de forma progresiva (22 Z), por lo que abarca una gran extensión. Durante el desarrollo, la zona se va reduciendo de tamaño y en el estadio 28 Z, la transición es brusca y se localiza en un punto concreto.

A nivel de la *pars terminalis retinae*, las primeras células que desaparecen de la retina neurosensorial son las células ganglionares y a continuación el resto.

EPITELIO PIGMENTADO

Desde el estadio de placoda cristaliniiana (11 Z), ya se observan diferencias de espesor entre las paredes de la vesícula óptica primaria que se acentúan durante la invaginación de la vesícula óptica secundaria.

En este periodo (13 a 16 Z), la capa externa es más gruesa en los bordes que en la zona central. Esta característica se mantiene durante todo el desarrollo embrionario.

El cambio de espesor se localiza a nivel de la *pars terminalis retinae*. Es decir, el epitelio pigmentado es más grueso cuando forma parte de los procesos ciliares y del iris.

Los primeros indicios, macro y microscópicos, de pigmentación se observan en el estadio 16 Z, donde la zona central de la capa externa presenta una tonalidad más oscura que el resto. Sin embargo, los primeros granos de pigmento no se aprecian con nitidez hasta el estadio 17 Z, en esa misma zona.

Los bordes comienzan a pigmentarse en el estadio 18 Z. En los primeros momentos la localización del pigmento, en el espesor de la capa externa, difiere de unas zonas a otras. Así, a nivel central los granos se sitúan en la superficie más alejada de la retina; mientras que en los bordes tienden a situarse en la superficie que contacta con la retina.

Hasta el estadio 20 Z no se pigmenta completamente toda la capa externa.

PECTEN

El primer indicio del pecten se observa a partir del estadio 17 Z cuando surge, a nivel de la fisura óptica y haciendo relieve en el interior de la vesícula óptica, un grupo de células que acompañan a la arteria *cupulae opticae*.

Hasta el estadio 21 Z, no se distingue una pequeña cresta que se introduce en el globo ocular siguiendo la línea de cierre de la fisura óptica.

Los primeros granos de pigmento aparecen en el borde libre del pecten, entre los estadios 23 y 24 Z y las primeras inclinaciones se observan en el estadio 26 Z. Sin embargo, la morfología típica del animal adulto se adquiere entre los estadios 28 a 30 Z.

A partir de la eclosión, los vasos sanguíneos incrementan el diámetro y hacen relieve en la pared de los pliegues.

CRISTALINO

La vesícula óptica primaria entra en contacto con el ectodermo superficial entre los estadios 8 y 9 Z (10 a 13 somitos).

El ectodermo superficial que está en contacto con las vesículas ópticas inicia un ligero engrosamiento en el estadio 10 Z, que lo distingue del resto del ectodermo cefálico.

La verdadera placoda cristaliniana (primer esbozo del cristalino) aparece en el estadio 11 Z, como un engrosamiento del ectodermo localizado en la zona de contacto con el extremo de la vesícula óptica primaria.

Cuando el embrión tiene entre 21 y 22 somitos (12 Z), se observa una pequeña depresión en el centro de la placoda y pasa a denominarse fosa cristaliniana.

Durante la invaginación de la fosa cristaliniana y de la vesícula óptica secundaria (12 y 13 Z), ambas estructuras permanecen en íntimo contacto, aunque en ocasiones el proceso histológico puede separarlas.

En el estadio 14 Z (26 a 32 somitos), los bordes de la fosa cristaliniana se acercan y se fusionan quedando un pedículo de unión entre la vesícula cristaliniana y el ectodermo superficial que la recubre.

Mientras los bordes de la fosa se van acercando, comienzan a verse las primeras diferencias entre la pared proximal y distal del esbozo cristaliniano. La pared proximal inicia un engrosamiento originado por la elongación de sus células.

La vesícula cristaliniana se aísla completamente del ectodermo en el estadio 15 Z. La pared proximal continúa creciendo hacia la pared distal, por lo que la luz se reduce y en el estadio 16 Z, solamente se conserva algún resto que se denomina cámara cristaliniana.

La luz de la vesícula desaparece en el estadio 17 Z, pues las fibras primarias (antigua pared proximal) se han puesto en contacto con el epitelio anterior (antigua pared distal).

Desde los estadios 18 y 19 Z, el epitelio anterior del cristalino presenta dos zonas claramente delimitadas. La zona central (inactiva) y las regiones ecuatorial y preecuatorial cuyo espesor se incrementa durante el desarrollo.

En la región preecuatorial (zona germinativa), se dividen las células que antes de incorporarse al núcleo como fibras secundarias, atravesarán la región ecuatorial.

A partir de los estadios 20 y 21 Z las fibras secundarias comprimen en el centro, a las primarias y sus núcleos aparecen pequeños y picnóticos. En el estadio 22 Z ya es difícil observar los núcleos y desaparecen completamente en el 23 Z.

CORNEA Y CAMARA ANTERIOR

El primer esbozo de la córnea aparece al final del estadio 14 Z (26 a 32 somitos), cuando los bordes de la fosa cristaliniana se fusionan y el ectodermo superficial recubre las vesículas óptica y cristaliniana. Este ectodermo que presenta dos capas celulares es el esbozo del epitelio corneal.

En el estadio 17 Z (3½ días), se inicia la primera oleada mesodérmica que corresponde al esbozo del endotelio. Las células mesodérmicas que rodean el borde de la vesícula óptica se introducen entre el epitelio anterior del cristalino y el futuro epitelio corneal.

Las células mesodérmicas se sitúan formando una hilera de células en el estadio 18 Z (4 días). Entre los esbozos del epitelio y endotelio se forma un espacio acelular (ópticamente vacío al principio), que se denomina estrato acelular de la córnea.

En este mismo estadio observamos el primer esbozo de la cámara anterior.

La segunda oleada mesodérmica aparece entre los estadios 20 y 21 Z (5-5½ días), invadiendo el estrato acelular de la córnea que ya está relleno de sustancia fundamental.

Igual que en la primera oleada, las células del mesodermo más superficial penetran desde la periferia hasta ocupar el centro del estrato acelular. En este momento la córnea ya presenta las tres capas celulares que la caracterizan, epitelio, estroma y endotelio.

En el estadio 26 Z aparece una banda densa, en el centro del estroma, que aumenta de intensidad en el estadio 28 Z y que se mantiene hasta el 32 Z.

Esta banda divide el estroma en dos partes que presentan algunas diferencias morfológicas. Cuando desaparece completamente la banda en el estadio 33 Z, ambas zonas del estroma conservan características particulares en relación sobre todo a la disposición de los queratocitos.

En el estadio 22 Z se observan dos capas diferenciadas en el espesor del epitelio corneal. La estratificación se hace más evidente entre los estadios 26 y 28 Z, donde las células superficiales se queratinizan, presentan una tinción más oscura y comienzan a descamarse. A partir del estadio 33 Z (eclosión) se incrementa el espesor del estroma corneal.

El espesor del estroma y en general de toda la córnea muestra una serie de variaciones a lo largo del desarrollo. La más importante tiene lugar entre los estadios 22 y 23 Z. A partir del estadio 31 Z el espesor va incrementandose de forma paulatina y continúa después de la eclosión.

Desde el estadio 20 Z hasta el 32 Z, el endotelio corneal experimenta pocos cambios. Sólo a partir del estadio 33 Z ya muestra su morfología típica con una sola hilera de células planas, perfectamente ordenadas.

El primer esbozo de las membranas de Bowman y de Descemet aparece en el estadio 23 Z y a partir de los estadios 26 a 28 Z ya no nos es posible distinguirlas. Este hecho pensamos que se debe a los procesos de fijación y decalcificación.

El radio de curvatura corneal disminuye en relación al del globo ocular entre los estadios 22 y 23 Z; aunque este detalle se observa con nitidez a partir del estadio 23 Z.

IRIS Y CUERPO CILIAR

Hasta el estadio 16 Z, el mesodermo que rodea la vesícula óptica se mantiene en los bordes de ésta sin sobrepasarla.

Aunque el borde de la vesícula óptica representa el primer esbozo del iris, hasta los estadios 21 y 22 Z no es posible identificar el verdadero esbozo iridiano.

Durante los mencionados estadios, el crecimiento de la vesícula óptica hace que sus borde se alarguen y arrastren con ellos parte del ectodermo que los cubre. De esta forma, en el esbozo del iris se distinguen la porción ectodérmica (compuesta por la retina ciega y el epitelio pigmentado) y la porción mesodérmica.

Previamente a este proceso, en el estadio 17 Z, los bordes de la vesícula óptica se ponen en contacto con la región ecuatorial del cristalino.

El iris crece y la retina ciega se adelgaza formando la *pars iridae retinae* (24 Z); sin embargo, a partir del estadio 27 Z se observan dos detalles: La *pars iridae retinae* desaparece a la vez que la superficie interna del iris se adhiere con fuerza a la región preecuatorial del epitelio anterior del cristalino.

La zona de retina y epitelio pigmentado que da lugar a la porción ectodérmica de los procesos ciliares, comienza a elongarse y se adelgaza a partir del estadio 21 Z. Pero los primeros pliegues no aparecen hasta el estadio 24 Z.

En el espesor de los pliegues se observa que la retina disminuye de grosor y pasa a denominarse *pars ciliaris retinae*. El epitelio pigmentado se engruesa, por lo que su espesor es mayor que el de la *pars ciliaris retinae*.

El desarrollo y diferenciación continúan y en el estadio 29 Z, los procesos ciliares alcanzan la morfología y estructura típica que tienen en el animal adulto; es decir, con las porciones ectodérmica y mesodérmica.

ESTADIO 7:

Las vesículas ópticas hacen protusión en las paredes laterales del prosencéfalo. La pared distal de las vesículas ópticas se acerca al ectodermo superficial sin contactar con él. No se observa la presencia de mesodermo entre ambas estructuras.

ESTADIO 8:

Macroscópicamente parece que las vesículas ópticas hacen contacto con el ectodermo, pero al microscopio observamos que aún permanece un espacio ópticamente vacío entre ambas estructuras.

El ectodermo situado en las zonas lateral y ventral de la región cefálica del embrión, es más grueso que el de la zona dorsal.

En la base del pedículo óptico se inicia una ligera constricción.

ESTADIO 9:

La pared distal de las vesículas ópticas contactan con el ectodermo superficial que a ese nivel alcanza el máximo grosor.

Las células de la vesícula óptica se orientan hacia la superficie de contacto con el ectodermo.

La constricción de los pedículos ópticos es manifiesta.

ESTADIO 10:

Las vesículas ópticas están en íntimo contacto con el ectodermo superficial y en su crecimiento dorso-lateral, hacen relieve en la pared lateral de la región cefálica.

En el ectodermo que se relaciona con la pared distal de la vesícula óptica, se distingue perfectamente el esbozo de la placoda cristaliniana.

Los pedículos ópticos están formados.

ESTADIO 11:

Macroscópicamente observamos que la placoda cristaliniana aparece como una condensación ectodérmica en el centro de la vesícula óptica primaria.

La pared distal de la vesícula óptica es más gruesa que la pared proximal.

Tanto las células de la placoda cristaliniana como las de la vesícula óptica presentan una ligera orientación hacia la superficie de contacto entre ambas.

ESTADIO 12:

En el centro comienza la invaginación de la placoda cristaliniana y de la vesícula óptica primaria (fosa cristaliniana y vesícula óptica secundaria, respectivamente).

Se acentúa la diferencia de grosor entre las capas interna y externa de la vesícula óptica.

ESTADIO 13:

Macroscópicamente se observa que en el centro de la fosa cristaliniana existe una zona de menor densidad que corresponde a la invaginación.

La vesícula óptica tiene un aspecto piriforme por la presencia de la fisura óptica (abierta) en posición ventro-caudal.

Los bordes de la fosa cristaliniana se acercan y en su interior se observan algunos detritus celulares.

La vesícula óptica y la fosa cristaliniana comienzan a separarse.

ESTADIO 14:

El contacto entre los bordes de la fisura óptica se inicia en la zona media del pedículo y avanza en dirección distal.

Entre el esbozo cristaliniano y el borde de la vesícula óptica aparecen unas fibras que pueden corresponder al primer esbozo del vítreo.

Al final del estadio se cierra la fosa cristaliniana y se forma la vesícula cristaliniana que continúa en contacto con el ectodermo a través del pedículo de unión. Al mismo tiempo, se observa que la pared proximal aumenta de grosor en relación a la pared distal.

ESTADIO 15:

Las capas interna y externa de la vesícula óptica establecen contacto en algunas zonas pero aún se distingue entre ambas el ventrículo óptico.

La vesícula cristaliniana ya se ha independizado del ectodermo superficial, aunque permanezca en contacto con él. Las células de la pared proximal comienzan a elongarse y sus núcleos se sitúan en la zona media de las células.

El ectodermo que cubre la vesícula cristaliniana corresponde al primer esbozo de la córnea (esbozo del epitelio corneal).

ESTADIO 16:

Se inicia la pigmentación del globo ocular que es visible macroscópicamente.

Las fibras primarias del cristalino contactan con la pared distal; aunque en el ecuador, bajo el epitelio anterior quedan restos de la luz (cámara cristaliniana).

La luz del ventrículo óptico queda limitada a los bordes de la vesícula óptica.

En la región central de la capa externa de la vesícula óptica se observa una tonalidad más oscura que en el resto. Es el inicio de la pigmentación.

ESTADIO 17:

Aumenta la pigmentación del globo ocular.

Lo más característico del estadio, es la primera oleada mesodérmica que comienza a ocupar el espacio entre el esbozo del epitelio corneal y el epitelio anterior del cristalino.

Los granos de pigmento son claramente visibles en la zona central de la capa externa de la vesícula óptica.

A través de la línea de cierre de la fisura óptica aparece el primer esbozo del pecten con la arteria *cupulae opticae*.

ESTADIO 18:

La pigmentación del globo ocular es manifiesta y destaca sobre el resto del embrión.

Rodeando el epitelio pigmentado se observa la condensación mesodérmica, origen de la esclera y la coroides.

Entre los esbozos del epitelio y endotelio corneales se forma el estrato acelular.

Aparece en primer esbozo de la cámara anterior.

Los bordes de la capa externa de la vesícula óptica se pigmentan y los granos de pigmento tienden a situarse en la superficie interna; mientras que en la zona central lo hacen en la superficie externa.

En la retina se distingue una fina capa de fibras ópticas en la superficie interna.

ESTADIO 19:

En el globo ocular todavía se observa la línea de fusión de la fisura óptica.

El cristalino adopta una forma globulosa y en su epitelio anterior destacan las regiones ecuatorial y preecuatorial. Las fibras secundarias comienzan a incorporarse al núcleo del cristalino.

En la retina destaca la capa de fibras ópticas.

ESTADIO 20:

Aumenta la condensación mesodérmica que rodea el epitelio pigmentado.

El estrato acelular de la córnea aparece relleno de sustancia fundamental.

Los neuroblastos tienden a situarse en la mitad interna de la retina.

ESTADIO 21:

La segunda oleada mesodérmica invade el estrato acelular de la córnea y constituye el esbozo del estroma corneal. Como consecuencia directa, se produce un gran engrosamiento de la córnea.

A través de la línea de cierre de la fisura óptica surge una cresta celular que corresponde al esbozo del pecten.

Los núcleos de las fibras primarias y secundarias del cristalino aparecen claramente picnóticos.

ESTADIO 22:

Las papilas esclerales se observan con nitidez rodeando la circunferencia corneal. La membrana nictitante aparece en la región más rostral del globo ocular.

En el epitelio corneal se distinguen una capa basal y otra superficial.

La línea de cierre de la fisura óptica no llega al orificio pupilar.

En el interior del globo ocular se reconoce el cuerpo vítreo.

En el segmento anterior del globo ocular destacan los esbozos del iris y del ángulo irido-corneal.

ESTADIO 23:

Los párpados presentan forma de elipse.

Alrededor del orificio pupilar existe un anillo más oscuro que corresponde al mayor espesor que tiene el epitelio pigmentado a ese nivel.

Algunas zonas de la esclera presentan una estructura cartilaginosa.

Ya no son visibles los núcleos de las fibras cristalínas.

Disminuye el radio de curvatura corneal y aumenta el espesor del estroma. Se observan los esbozos de las membranas de Bowman y de Descemet.

En la retina destacan los fotorreceptores.

ESTADIO 24: (Tercer dedo: 0,23 cm.)

El borde del párpado inferior contacta con las papilas esclerales.

Ha desaparecido la línea de cierre de la fisura óptica.

El vítreo adquiere mayor consistencia y aparecen los primeros pliegues de los procesos ciliares.

La retina neurosensorial está perfectamente estratificada y en su espesor se distinguen todas las capas.

El proceso histológico provoca que parte de la retina visual se separe del epitelio pigmentado.

ESTADIO 25: (Tercer dedo: 0,36 cm.)

El reborde palpebral, de forma piriforme, rodea la circunferencia corneal excepto en la zona rostral cubierta por la membrana nictitante.

El cuerpo vítreo presenta una gran consistencia y ocupa toda la cavidad ocular.

La mayor parte de la retina neurosensorial está separada del epitelio pigmentado debido al proceso histológico.

Comienza a delimitarse la *pars terminalis retinae*, a la vez que la *pars iridae retinae* deja de ser visible.

ESTADIO 26: (Tercer dedo: 0,43 cm.)

Comienzan a pigmentarse los esbozos de plumas situados entre los globos oculares.

Los párpados cubren parte de la córnea.

Las células superficiales del epitelio corneal comienzan a descamarse y en el centro del estroma aparece una banda más densa.

En los márgenes del ángulo irido-corneal, se observan los esbozos del músculo ciliar y del sistema de drenaje del humor acuoso.

El pecten se alarga y en su trayecto surgen las primeras inclinaciones.

ESTADIO 27: (Tercer dedo: 0,54 cm.)

En el borde de los párpados aparecen los primeros esbozos de plumas, mientras que en el resto comienzan a pigmentarse.

La hendidura palpebral se ha reducido bastante de tamaño.

Por el estroma superficial de la córnea transcurren pequeños nervios que terminan en el epitelio.

En la base del pecten surgen los primeros pliegues.

ESTADIO 28: (Tercer dedo: 0,67 cm.)

La banda central del estroma corneal capta con más intensidad el colorante.

La transición entre retina visual y ciega (*pars terminalis retinae*) es brusca.

Los artículos externos de los fotorreceptores se interdigitan con las células del epitelio pigmentado.

El pecten aparece muy plegado. En el espesor de los pliegues existen vasos sanguíneos y pigmento.

ESTADIO 29: (Tercer dedo: 0,82 cm.)

El borde libre de los párpados comienza a pigmentarse.

En el espesor de la coroides existe pigmento y gran número de vasos sanguíneos.

Como la retina neurosensorial no se ha desprendido del epitelio pigmentado, la capa de fibras ópticas aparece rota y separada del resto de la retina. Esto se debe a la tracción del vítreo sobre la retina por el proceso histológico.

El borde libre del pecten aparece también pigmentado.

ESTADIO 30: (Tercer dedo: 0,95 cm.)

Los párpados están casi cerrados y en los bordes aumenta la pigmentación.

Las células ganglionares de la retina son las primeras que desaparecen a nivel de la *pars terminalis retinae*.

El pecten presenta más de 20 pliegues que se distribuyen en la cavidad vítrea.

ESTADIO 31: (Tercer dedo: 1,08 cm.)

Los párpados están completamente cerrados.

La banda central del estroma corneal es mucho más tenue.

Los fotorreceptores son las últimas células que desaparecen a nivel de la *pars terminalis retinae*.

ESTADIO 32: (Tercer dedo: 1,23 cm.)

Mientras desaparece la banda estromal central, en el tercio superficial se observa mayor densidad de queratocitos.

El endotelio corneal va adquiriendo una morfología homogénea.

ESTADIO 33: (Tercer dedo: 1,35 cm.)

Destaca la gran pigmentación negra del borde de los párpados.

La córnea aumenta de espesor a expensas del epitelio (donde se incrementa el número de capas celulares) y sobre todo del estroma.

En el estroma desaparece la banda central y adquiere un aspecto homogéneo, aunque en el tercio externo continúa la mayor densidad de queratocitos.

El endotelio corneal presenta la morfología típica con una hilera de células planas perfectamente ordenadas.

Entre los artículos externos de los fotorreceptores y el epitelio pigmentado se incrementan las interdigitaciones.

ESTADIO 1+:

Los orificios nasales (pues el animal ya respira) y los párpados están abiertos. Esto permite observar la gran pigmentación del borde libre.

La córnea presenta un aspecto homogéneo.

Las interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado son muy pronunciadas. Este detalle se observa porque la retina recibe el estímulo luminoso.

Aumenta el calibre de los vasos sanguíneos en el espesor de los pliegues del pecten.

ESTADIO 2+:

La córnea es más gruesa que en el estadio anterior y a nivel retiniano se mantienen las interdigitaciones entre los fotorreceptores y el epitelio pigmentado.

Los vasos sanguíneos del pecten destacan en el interior de los pliegues.

RESULTADOS

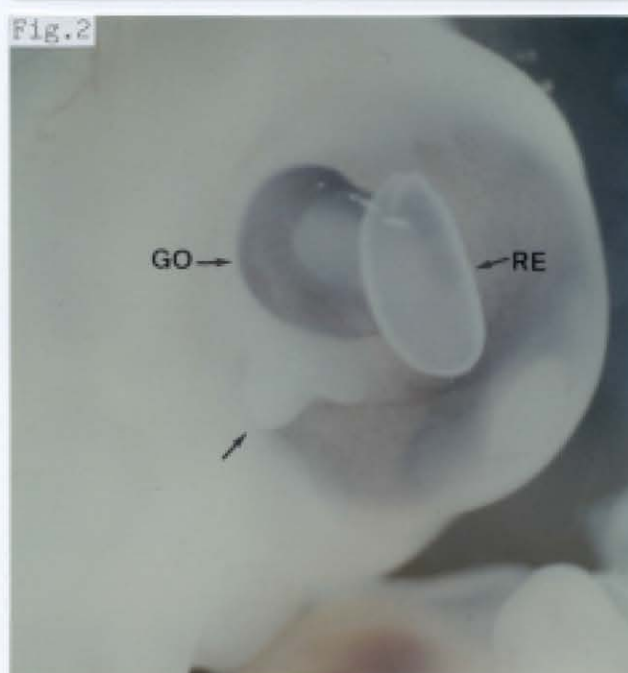
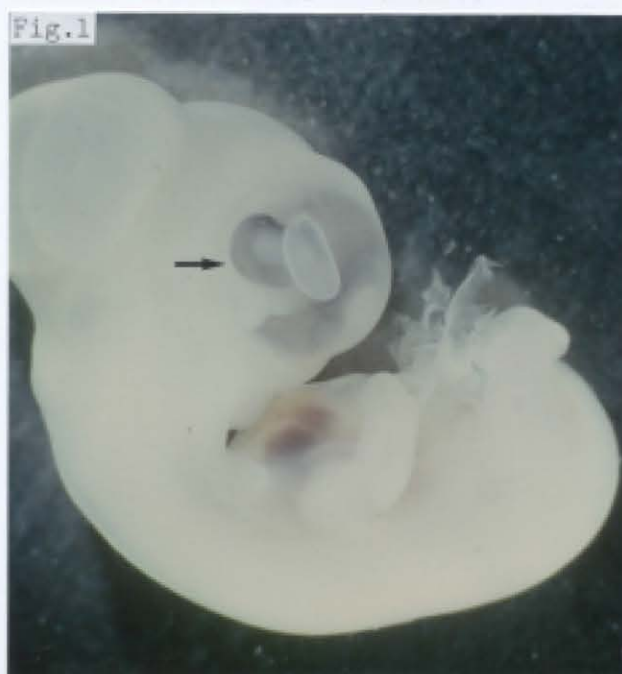
(INJERTOS)

EMBRION O-8

EMBRION 0-8

Fig.1: Visión lateral derecha donde se observa el desarrollo del embrión y la localización del injerto (flechas). (1,1x)

Fig.2: Detalle donde vemos que parte del injerto está pigmentado y semeja un globo ocular. También existe una estructura translúcida vesiculada y otra lobulada y de mayor consistencia (flechas). (2,6x)



ESTADIO 2+: EMBRION CT-145

Fig.2: Corte horizontal oblicuo del segmento anterior donde vemos la pigmentación del borde libre de los párpados. Por el estroma corneal transcurre un nervio (flecha). El ángulo irido-corneal está roto por la adherencia entre el iris y el epitelio anterior del cristalino. (BB, 4x)

Fig.3: Detalle de la córnea que muestra como las células superficiales (degeneradas) del epitelio se van descamando. En el estroma vemos que la ordenación del colágeno y los queratocitos es diferente entre el tercio externo y el resto. (BB, 40x)

Fig.4: Detalle de la *pars terminalis retinae*. Parte de la retina ciega también se ha separado del epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Fig.5: Corte donde vemos todas las capas de la retina neurosensorial y las interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y el epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Fig.6: Detalle del pecten en cuya base se encuentran los vasos sanguíneos de donde parten las ramas que se introducen en los pliegues. (BB, 10x)

EMBRION: 0-8

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en región periocular del ojo derecho de un embrión de pollo (E: 18 HH).

Se reincuba durante 72 horas. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 18+ Z.

Estadio teórico del Receptor: 28-29 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 28+ HH.

El injerto se ha desarrollado junto al globo ocular derecho, entre éste y el tectum óptico.

Observamos una estructura ovalada y muy pigmentada que en el centro deja un orificio libre de pigmento semejante a la pupila. A través de ese orificio vemos una formación blanquecina que corresponde al cristalino. La zona pigmentada presenta unas líneas perpendiculares al orificio pupilar; además está atravesada parcialmente por un vaso sanguíneo.

Entre esta estructura, que semeja un globo ocular, y el ojo derecho del receptor existe una formación vesiculada y translúcida.

Por último, caudalmente al globo ocular desarrollado, se distingue otra estructura de consistencia más dura, color blanco y forma lobulada. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En una visión panorámica, observamos que a partir del injerto se ha desarrollado un esbozo de globo ocular y entre él y el ojo derecho del receptor, una estructura nerviosa derivada del embrión donante. (figuras 3 a 6 y 9)

Vamos a estudiar en primer lugar el globo ocular .

Se ha desarrollado un cristalino que está orientado hacia la superficie del embrión. Presenta un epitelio anterior que se engruesa ligeramente en las zonas ecuatorial y preecuatorial. Los núcleos de las fibras primarias se disponen en forma de "media luna", muy cerca del epitelio anterior.

Hemos observado que casi toda la cápsula posterior y en algunas zonas el epitelio anterior (figura 11c), están en íntimo contacto con la capa interna de la vesícula óptica (retina del injerto). Incluso en algunos cortes parece que el cristalino es una continuación de la retina. (figuras 5, 6, 10 y 11a a 11d)

Aunque la mayor parte del epitelio anterior del cristalino se relaciona con retina y epitelio pigmentado, en algunas zonas está cubierto por una capa celular que lateralmente se continúa con el ectodermo superficial. Esta capa celular parece que corresponde al esbozo de la córnea. (figuras 5, 10 y 11d)

Entre el esbozo corneal, el cristalino y los bordes de la vesícula óptica se forma un espacio ópticamente vacío que identificamos como el esbozo de la cámara anterior. (figuras 5, 10 y 11d)

Existe una condensación mesodérmica que rodea el ojo derecho del receptor y que se extiende rodeando también casi todo el injerto. (figuras 3 a 6)

A partir de la capa externa de la vesícula óptica se ha desarrollado el epitelio pigmentado, pero presenta una serie de particularidades.

Normalmente está pigmentado, pero en algunas zonas comienza a perder el pigmento y se une, sin solución de continuidad, con el ectodermo superficial del receptor. (figuras 3, 4, 6, 12 y 13)

En otras zonas pierde bruscamente el pigmento y también se une, sin solución de continuidad, con la estructura nerviosa que se ha desarrollado en la vecindad. (figuras 14 y 15)

En el resto del globo ocular, el epitelio pigmentado se comporta normalmente; es decir, a nivel del borde de la vesícula óptica se pliega y se continúa con la retina (capa interna). (figuras 5 y 11a a 11d)

En las zonas donde está pigmentado, los granos de pigmento ocupan toda la célula o se localizan en la superficie que no está en contacto con la retina. (figura 7)

A partir de la capa interna de la vesícula óptica se ha desarrollado la retina. Pero como ocurría con el epitelio pigmentado, la retina presenta varios detalles interesantes.

En primer lugar vemos que una parte de la retina ha crecido dentro del embrión y otra fuera. Esta última porción corresponde a la estructura translúcida y vesiculada que veíamos en las imágenes macroscópicas. (figuras 3 a 6)

La retina que se localiza en el interior presenta gran espesor y muchos pliegues. No es posible identificar una estratificación en capas, aunque en la superficie interna existe una estrecha franja acelular que podría corresponder a la capa de fibras ópticas. El epitelio pigmentado no acompaña los pliegues de la retina. (figuras 3 a 7)

La retina que se ha desarrollado en el exterior tiene un espesor sensiblemente inferior, no presenta pliegues ni está rodeada por el epitelio pigmentado. Tampoco existe una estratificación celular definida. (figuras 3 a 6 y 8)

Si estudiamos con detenimiento ambas retinas, vemos que en la zona donde el epitelio pigmentado se une con el ectodermo superficial, la retina interna se continúa con la externa (figuras 4, 6, 12 y 14). Sin embargo, en la región donde el epitelio pigmentado se continúa con la retina interna, (borde de la vesícula óptica) la retina externa surge del ectodermo superficial. (figuras 4 a 6 y 11a a 11c)

La formación nerviosa que se ha desarrollado entre el globo ocular del injerto y el ojo derecho del receptor no crece en ninguna dirección ni se une a otras estructuras. En algunas zonas, adopta forma ovalada con una luz en el interior parecida a la morfología del sistema nervioso. (figuras 3 a 6)

EMBRION 0-8

Fig.3: Corte horizontal oblicuo que muestra la situación del injerto (flechas). (HC, 2x)

Fig.4: Corte a otro nivel donde observamos que entre el injerto y el ojo derecho se ha desarrollado una estructura nerviosa. Vemos que una parte del injerto se encuentra vesiculada fuera del receptor. (HC, 4x)

Figs.5 y 6: Cortes donde se observa que también se ha diferenciado un cristalino. (HC y FE, 4x)

Fig.7: Detalle de la retina y epitelio pigmentado plegados sobre sí mismos y como se han desarrollado comprimidos dentro del receptor. (HC, 40x)

Fig.8: Detalle de la retina que se ha desarrollado fuera del embrión y en ausencia de epitelio pigmentado. (FE, 40x)

Fig.9: Arriba, detalle de la estructura nerviosa donde podemos distinguir perfectamente los nucleolos de las células. Abajo y separada por su epitelio pigmentado, vemos la retina del ojo derecho del receptor en donde no son visibles los nucleolos. (FE, 40x)

Fig.10: Detalle de la estructura que puede corresponder al esbozo corneal. Presenta una sola capa de células. (FE, 40x)



Fig.3

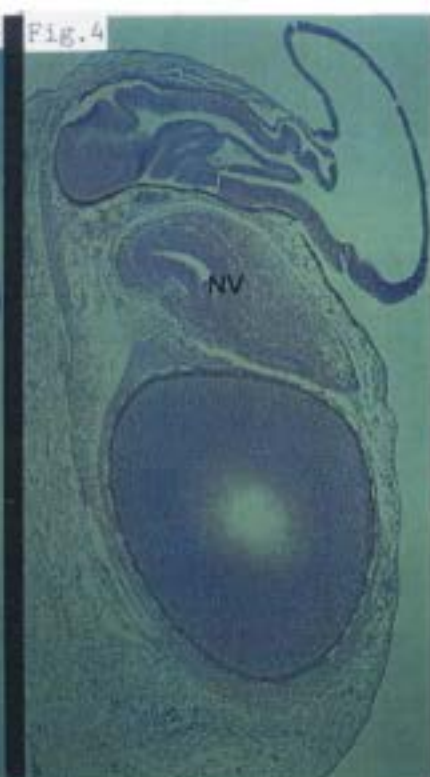


Fig.4



Fig.5



Fig.6

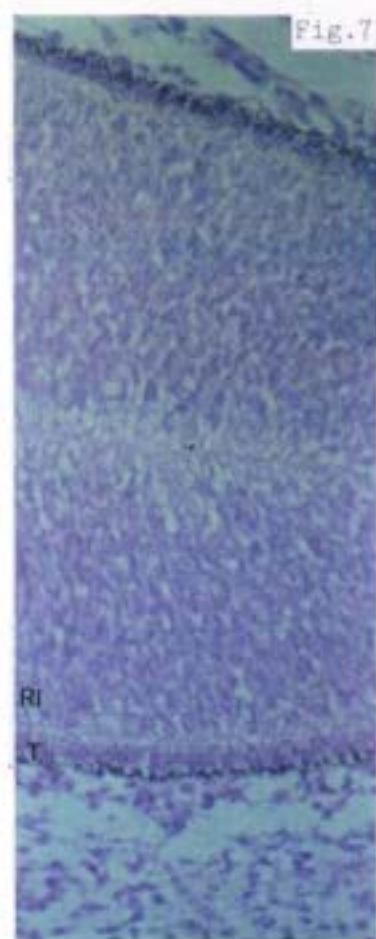


Fig.7

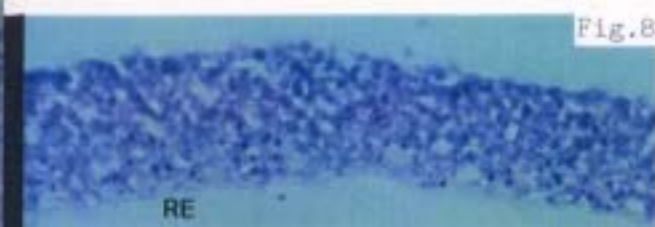


Fig.8

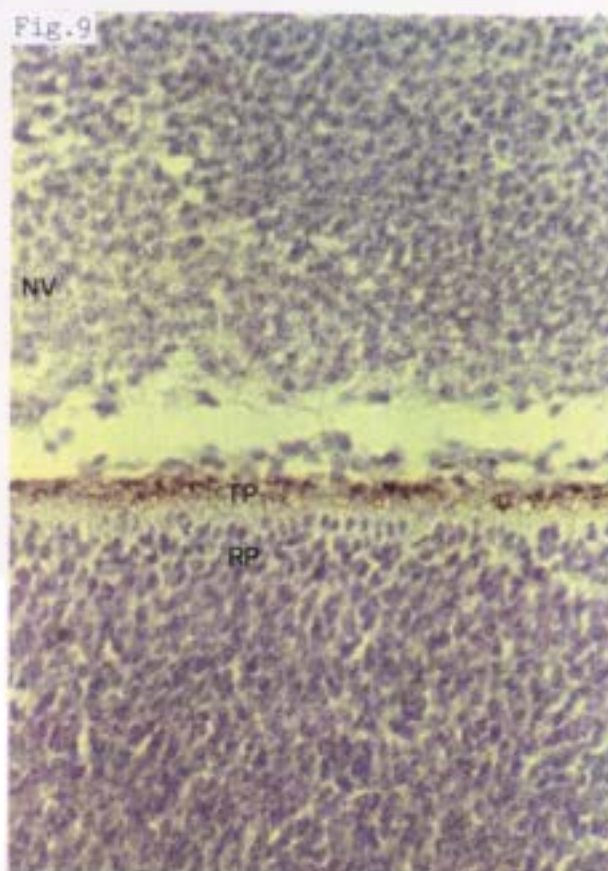


Fig.9

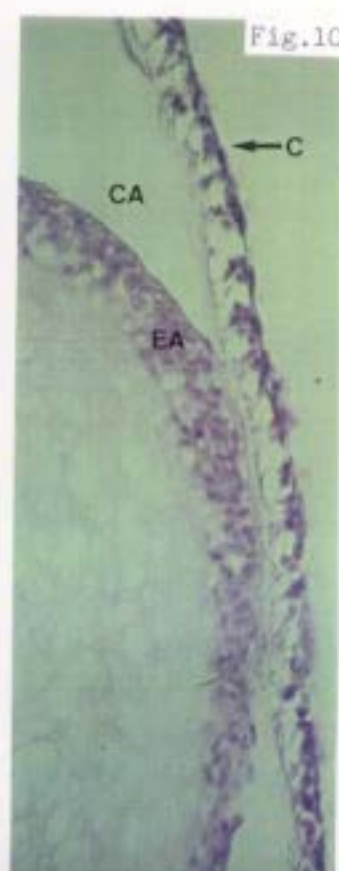


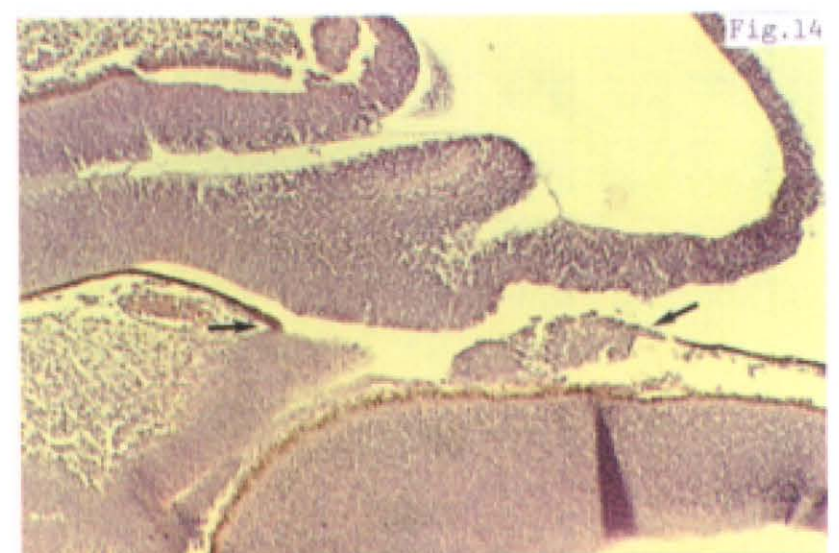
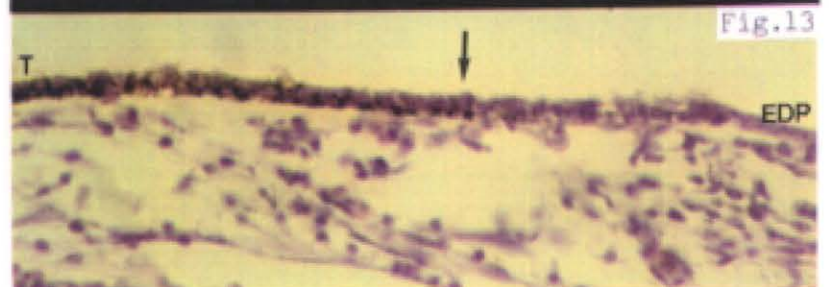
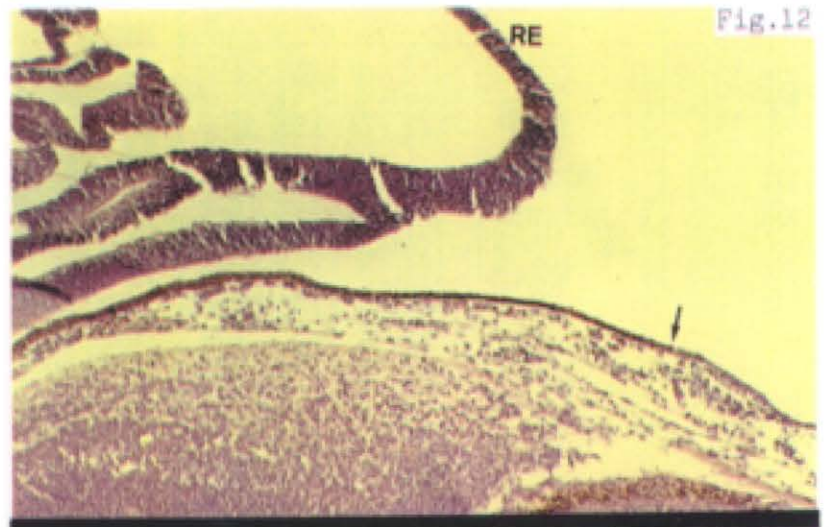
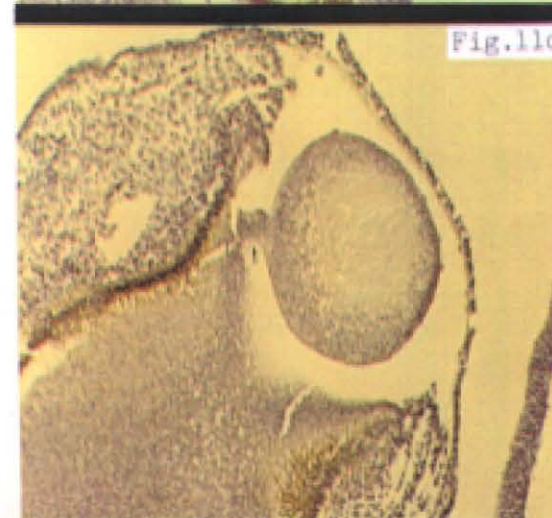
Fig.10

Figs.11a a 11d: Cortes seriados del cristalino donde podemos observar la íntima relación (flechas pequeñas) que existe entre la pared proximal o cápsula posterior cristaliniana con la retina del injerto. También vemos que la retina externa se continúa con el ectodermo superficial (flechas grandes). (FE, 10x)

Figs.12 y 13: Cortes que muestran como el epitelio pigmentado del injerto se une, sin solución de continuidad (flechas), con el ectodermo del embrión receptor. (FE, 10x y 40x)

Fig.14: Corte donde vemos que en algunas zonas el epitelio pigmentado se continúa (flechas) con la estructura nerviosa desarrollada entre el injerto y el globo ocular derecho del receptor. (HC, 10x)

Fig.15: Detalle del punto en el que el epitelio pigmentado se continúa con la estructura nerviosa, diferenciada también a partir del injerto. (HC, 20x)



EMBRION O-35

EMBRION: O-35

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en región periocular del ojo derecho de un embrión de pollo (E: 18 HH).

Se reincuba durante 73 horas. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 19-20 Z.

Estadio teórico del Receptor: 28-29 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 28+ HH.

El injerto se ha desarrollado sobre el ojo derecho del embrión receptor, entre el orificio pupilar y el borde dorsal del globo ocular. A ese nivel vemos una estructura redondeada, ligeramente pigmentada y en el centro una formación blanquecina que puede corresponder al cristalino.

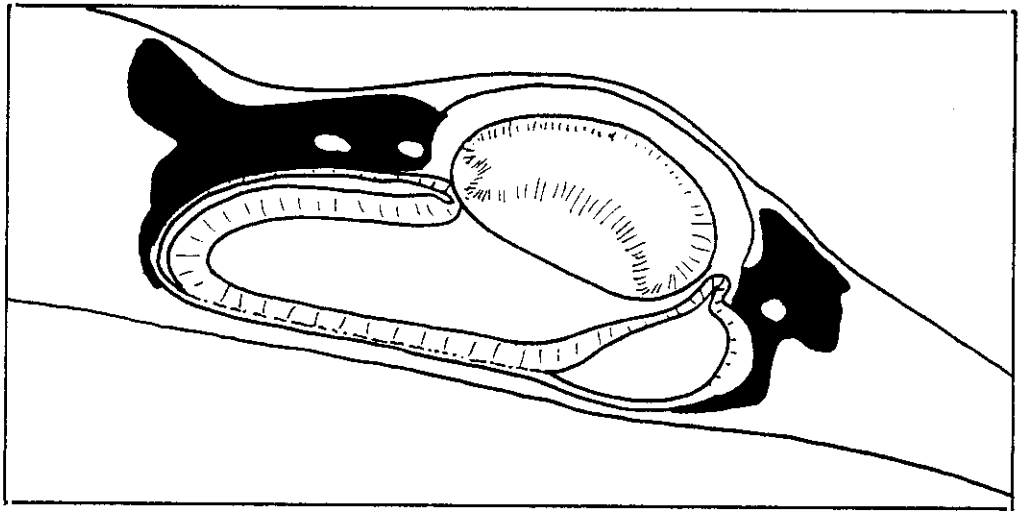
ESTUDIO MICROSCOPICO:

Lo que más llama la atención es la gran diferencia de tamaño entre el globo ocular desarrollado a partir del injerto y el ojo derecho del receptor. (figura 1)

La condensación mesodérmica que rodea el globo ocular derecho del embrión de pollo se interrumpe justo a nivel del injerto. (figuras 1 a 3)

Parte del mesodermo que rodea el globo ocular pertenece al propio injerto. En el esquema de la figura 3, las zonas negras muestran el mesodermo del injerto.

Esquema de
la fig.3



La cavidad vítrea no está ópticamente vacía, pues en algunas zonas existe una sustancia que capta de forma tenue el colorante. (figura 3)

La córnea presenta dos capas de células (esbozos del epitelio y endotelio), separadas por un estrato acelular.

La capa externa o epitelio corneal es gruesa, tiene una o dos hileras de células cúbicas y sus nucleolos no destacan ni con la tinción de Feulgen. Esta capa se continúa periféricamente con el ectodermo del embrión receptor.

En la capa interna o endotelio corneal, solamente se distingue una hilera de células planas y aunque sus nucleolos no son muy evidentes, esta capa se continúa periféricamente con células mesodérmicas pertenecientes al injerto como vemos en el esquema anterior que muestra el tejido mesodérmico de codorniz. (figuras 3 y 4)

En el cristalino no se observan restos de la cámara cristaliniana debajo del epitelio anterior. Este epitelio que presenta gran cantidad de células, se engruesa a nivel ecuatorial y preecuatorial. Las células de la pared proximal (fibras primarias del cristalino), elongadas hasta contactar con el epitelio anterior, tienen sus núcleos en forma de "media luna" y los nucleolos se distinguen claramente. (figuras 3, 4 y 7)

Entre la córnea y el cristalino existe un espacio ópticamente vacío que identificamos como el esbozo de la cámara anterior. (figuras 4 y 6-8)

Los bordes de la vesícula óptica no engloban completamente el cristalino, incluso en algunas zonas se sitúan por detrás de él. (figuras 2 y 3)

Entre ambas capas de la vesícula óptica quedan restos del ventrículo óptico que se localiza perfectamente en los borde de ésta. (figuras 3 y 6)

En otra zona de la vesícula óptica observamos que ambas capas están muy separadas. El espacio que queda entre ambas no se parece al ventrículo óptico que veíamos anteriormente. Además las características que presentan las capas interna y externa son diferentes a las que muestran en el resto de la

vesícula óptica. (figuras 3 y 7)

Dejando para después la descripción de esta zona, vamos a estudiar las características que presentan las capas de la vesícula óptica en el resto del injerto.

En el área central la capa externa (futuro epitelio pigmentado) es muy fina y presenta una clara pigmentación, aunque los granos de pigmento no enmascaran el resto del contenido celular. En los bordes, el pigmento va desapareciendo a la vez que aumenta el espesor de la capa. (figuras 3, 5 y 6)

La capa interna (esbozo de la retina) muestra un espesor más homogéneo en todas las zonas de la vesícula óptica. Aunque no se distingue ninguna estratificación en capas, parece existir mayor condensación celular en la mitad interna de la capa. (figuras 3, 5 y 6)

Vamos a estudiar detenidamente la zona en la que ambas capas de la vesícula óptica se han desarrollado separadas.

A ese nivel la capa externa va perdiendo la pigmentación a la vez que aumenta de forma considerable su espesor.

La capa interna, por el contrario, disminuye su espesor a más de la mitad, mientras que las células en esa zona no tienen la ordenación que veíamos en el resto de la retina. (figuras 3 y 7)

Revisando todo el globo ocular no hemos encontrado indicios del nervio óptico.

EMBRION 0-35

Fig.1: Corte horizontal oblicuo que muestra la localización del injerto (flecha). (HC, 1,9x)

Fig.2: Corte donde observamos como la condensación mesodérmica que rodea el ojo derecho del embrión receptor (flechas), desaparece en la vecindad del injerto. (HC, 4x)

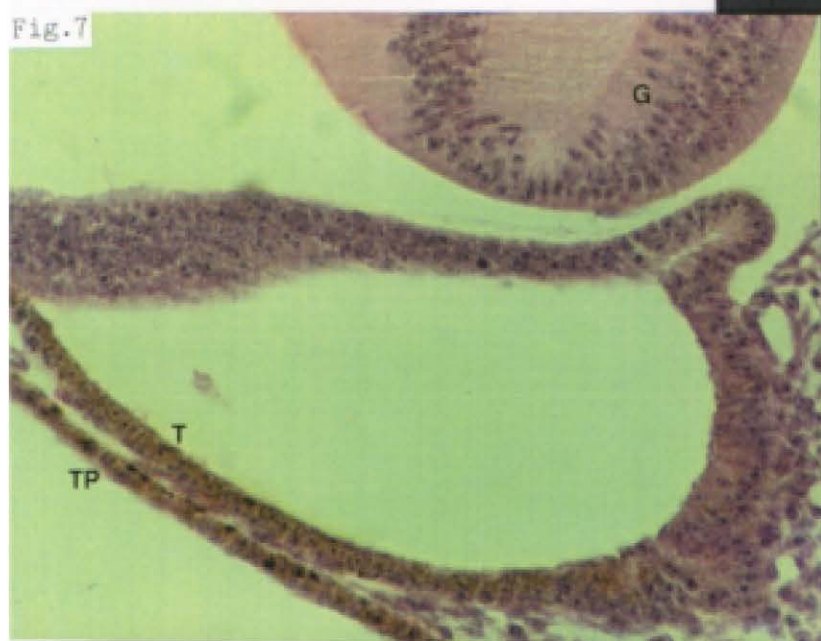
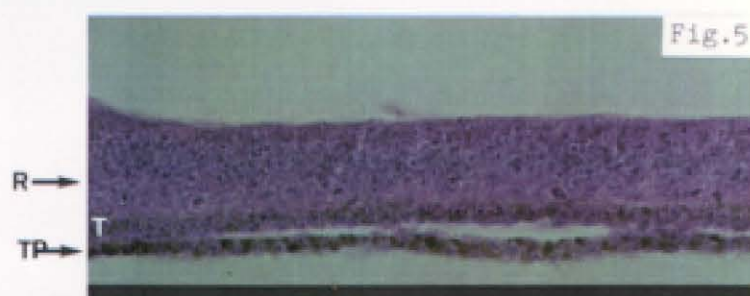
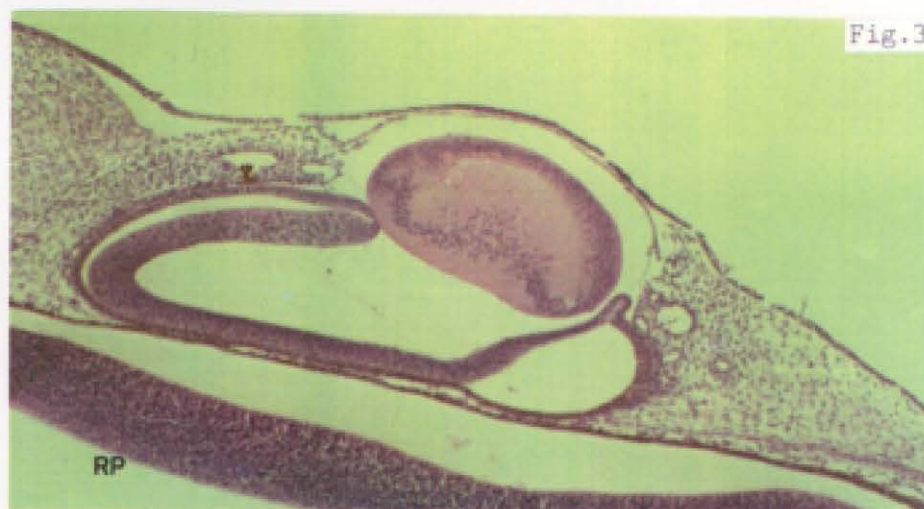
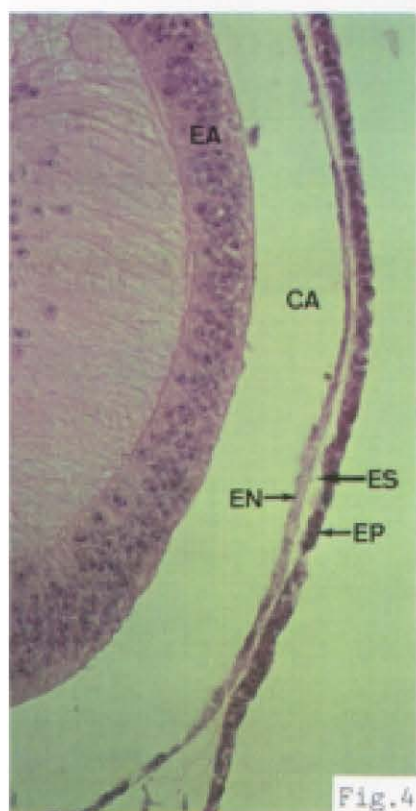
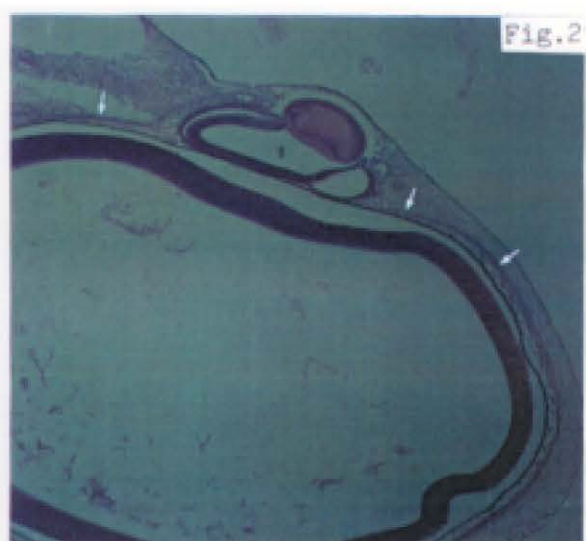
Fig.3: Corte donde vemos las estructuras que se han desarrollado a partir del injerto. (HC, 10x)

Fig.4: Detalle del epitelio, estroma acelular y endotelio corneales, y del epitelio anterior del cristalino. (HC, 40x)

Fig.5: Detalle de la retina y del epitelio pigmentado del injerto a nivel central. También observamos el epitelio pigmentado del receptor. (HC, 40x)

Fig.6: Detalle del borde de la vesícula óptica donde vemos que la capa externa a ese nivel no está pigmentada. Son evidentes los nucleolos de las células mesodérmicas que rodean el borde de la vesícula óptica. (HC, 40x)

Fig.7: Detalle de la zona en la que ambas capas de la vesícula óptica se han desarrollado separadas. (HC, 40x)



EMBRION O-45

EMBRION: 0-45

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10+ Z, 18 pares de somitos), en región periocular del globo ocular derecho de un embrión de pollo (E: 18+ HH).

Se reincuba durante 6 días y 2 horas. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 24-25 Z.

Estadio teórico del Receptor: 35 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión presenta una celosomía abdominal con protusión de corazón, pulmones, hígado e intestino, como vísceras más importantes y ha alcanzado un estadio 34+ HH.

El embrión se ha desarrollado sobre el ojo derecho del embrión de pollo entre la córnea y el borde caudal del tectum óla parte ventral; es decir, las más cercana a la córnea del receptor.

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En este embrión hemos observado una serie de detalles en relación con el cristalino⁴ y con ambas capas de la vesícula óptica que merecen ser estudiados con detenimiento, por ello lo dejamos para el final.

El injerto se ha desarrollado sobre el ojo derecho del receptor y se extiende casi desde la córnea hasta el tectum óptico. En algunas zonas ambos epitelios pigmentados están en contacto. (figuras 1 a 3, 6 y 7)

El cartílago escleral del ojo derecho del receptor finaliza en el espacio que se forma entre éste y el injerto. (figura 2)

El tejido mesodérmico del receptor rodea todo el injerto excepto en aquellos puntos donde decíamos que los epitelios pigmentados estaban en contacto. (figuras 1 y 2)

Revisando todo el injerto no hemos observado la diferenciación de la córnea, ni siquiera de algún esbozo.

A partir de la capa interna de la vesícula óptica se ha desarrollado la retina. Una parte se ha diferenciado en retina neurosensorial y otra en retina ciega.

En algunas zonas la transición entre ambas (*pars terminalis retinae*) se realiza normalmente e incluso, como veíamos en los controles, la retina visual está desprendida del epitelio pigmentado, mientras que la retina ciega permanece íntimamente unida a él.

En varias zonas del injerto se han desarrollado unos pliegues que corresponden a los procesos ciliares. En su espesor participan el epitelio pigmentado, la retina ciega

(*pars ciliaris retinae*) y en ocasiones el mesodermo. (figuras 3, 4, 8g y 8h)

Prácticamente toda la retina neurosensorial está separada de la capa externa de la vesícula óptica. (figuras 1 y 2)

Esta capa presenta morfologías muy diferentes de unas zonas a otras. En unas regiones observamos muchos pliegues; pliegues que no son acompañados por la capa externa de la vesícula óptica. A ese nivel la retina muestra menor grosor y grado de desarrollo. (figuras 5 y 8d a 8f)

En el resto de la retina neurosensorial observamos que esta capa presenta diferentes aspectos morfológicos. En general, no vemos una clara diferenciación de los fotorreceptores ni de sus artículos externos, ni una ordenación en capas.

En algunas zonas encontramos una fina capa acelular en la superficie interna que correspondería a las fibras ópticas. (figuras 6, 7, 9 y 10)

La retina neurosensorial, en unas zonas aparece muy delgada (figuras 10 a 12) y en otras presenta grandes y numerosas vacuolas en su espesor que le dan un aspecto degenerativo. (figuras 2 y 13)

En la región más rostral del injerto, entre el cristalino y el epitelio pigmentado, no existe ninguna estructura que corresponda a la retina. (figuras 3, 8d y 8f)

La retina ciega permanece en contacto con la capa externa de la vesícula óptica (figuras 2 a 5). Sin embargo, hay zonas donde ambas capas están separadas, como en el tramo de retina ciega que parte de los pliegues de la retina neurosensorial.

(figuras 5 y 8f)

La capa externa de la vesícula óptica que se encuentra junto al ojo derecho del receptor se ha diferenciado en epitelio pigmentado (figura 2). Cerca del punto donde el injerto y el ojo derecho del embrión se separan, el epitelio pigmentado del injerto pierde el pigmento, se engruesa y sin solución de continuidad se transforma en retina neurosensorial; observandose por lo tanto en algunas zonas del injerto dos retinas neurosensoriales.

El pigmento normalmente no desaparece bruscamente, sino que mientras va aumentando de espesor, se conserva una ligera pigmentación en la superficie interna. (figuras 6, 7 y 9)

La transformación del epitelio pigmentado en retina neurosensorial rodea todo el globo ocular del injerto y finaliza plegandose en el borde y continuandose con la retina. (figuras 2 a 4)

En la retina neurosensorial externa (transformada a partir del epitelio pigmentado), observamos que las células se concentran en la mitad interna, mientras que en la superficie externa parece existir una pequeña franja acelular o con un número muy reducido de células. (figuras 10 a 13)

En el interior del globo ocular del injerto se ha desarrollado el cuerpo vítreo con la hialoides vítrea. (figuras 2, 4 y 10)

En algunas zonas el cristalino parece que se ha desarrollado normalmente; pero tanto el epitelio anterior como las fibras presentan detalles interesantes que es necesario analizar en su conjunto, viendo las relaciones del cristalino

con las estructuras vecinas. (figuras 3 y 8a a 8h)

El epitelio anterior se ha orientado hacia el interior del embrión, en vez de hacerlo hacia la superficie externa. Destaca la pigmentación que presenta tanto en la zona central como en las regiones ecuatorial y preecuatorial. (figuras 3 y 8c a 8f)

La mayor parte de las fibras cristalinianas conservan sus núcleos. En algunos cortes aparece en el interior del cristalino una gran vacuola excéntrica y ópticamente vacía. (figuras 3 y 8b a 8e)

Existen algunos restos de la cámara cristaliniana. (figura 8b)

La pigmentación del epitelio anterior se debe a que esta estructura se une, sin solución de continuidad, a la retina ciega y al epitelio pigmentado. Además, ya hemos comentado que en el extremo rostral del injerto no existen indicios de retina entre el cristalino y el epitelio pigmentado. (figuras 3 y 8a a 8f)

En otras zonas observamos que el cristalino aparece bilobulado (figuras 8d a 8f). Siguiendo (en cortes seriados) el lóbulo más interno vemos que se une, sin solución de continuidad, con la retina periférica que por el grosor identificamos como retina neurosensorial. (figuras 8e a 8h)

No hemos observado la existencia de los esbozos del iris, del pecten ni del nervio óptico.

EMBRION O-45

Fig.1: Corte horizontal oblicuo, donde observamos la situación del injerto en el embrión receptor (flechas). (CC, 1,4x)

Fig.2: Corte que muestra con más detalle el injerto donde se aprecian dos retinas neurosensoriales. (CC, 2x)

Fig.3: Corte que correspondería al segmento anterior donde vemos que el epitelio pigmentado y la retina ciega están íntimamente relacionados con el cristalino; sobre todo, a nivel del ecuador del epitelio anterior (flechas). (CC, 10x)

Fig.4: Detalle de la transición entre retina neurosensorial y ciega y del esbozo de los primeros procesos ciliares. Destaca la existencia del cuerpo vítreo. (CC, 20x)

Fig.5: Corte a otro nivel, donde vemos la presencia de unos pliegues de la retina (flechas) sin epitelio pigmentado. (CC, 20x)

Figs.6 y 7: Detalle en dos cortes diferentes que muestra la zona de transformación (flechas) del epitelio pigmentado en retina, sin solución de continuidad. (CC, 20x)

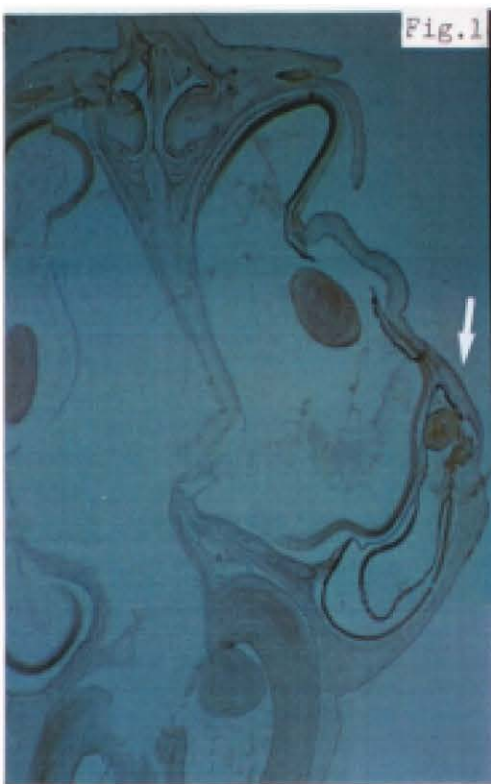


Fig. 1



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4



Fig. 5

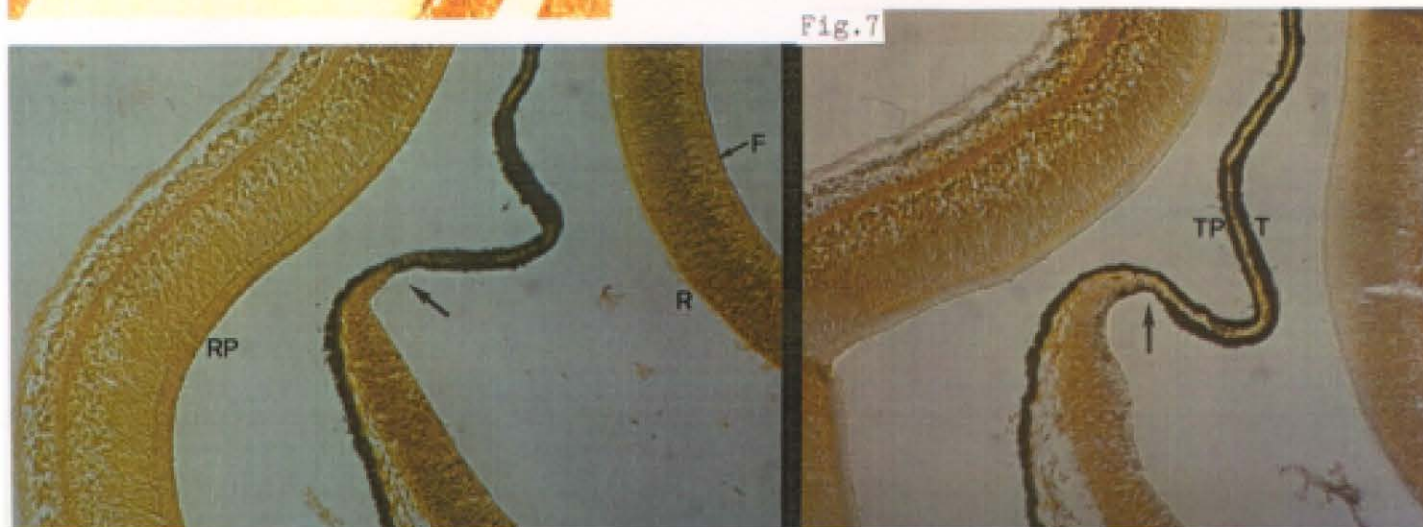


Fig. 7

Figs.8a a 8h: Cortes sucesivos del cristalino en los que vemos que esta estructura parece derivar del borde de la vesícula óptica. (CC, 10x)



Fig. 8a

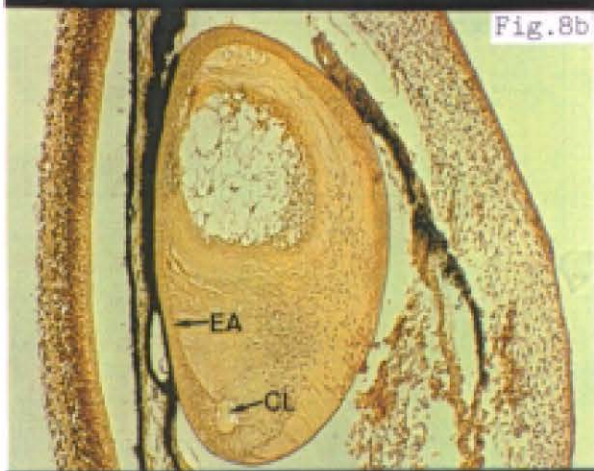


Fig. 8b



Fig. 8c



Fig. 8d



Fig. 8h



Fig. 8g

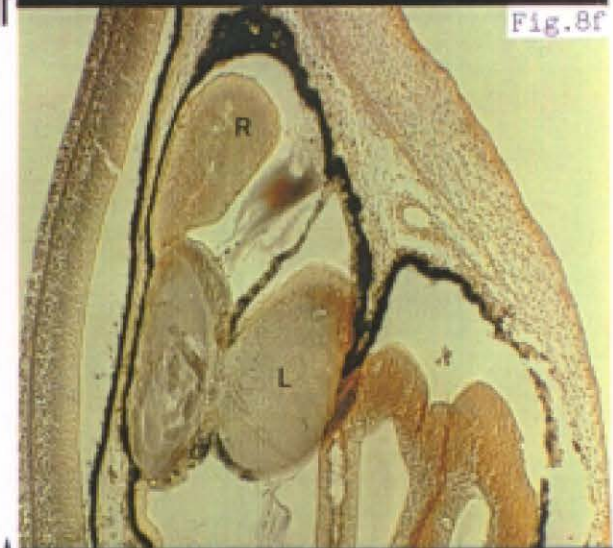


Fig. 8f



Fig. 8e

Fig.9: Montaje que muestra con detalle la zona en la que el epitelio pigmentado pierde de forma progresiva el pigmento, se engruesa y se transforma en una capa muy semejante a la retina neurosensorial. (CC, 40x)

Fig.10: Corte donde de izquierda a derecha vemos las siguientes estructuras: Epitelio pigmentado del receptor, epitelio pigmentado del injerto, retina neurosensorial del injerto, cuerpo vítreo y retina transformada a partir del epitelio pigmentado del injerto. (CC, 20x)

Figs.11, 12 y 13: Cortes a diferentes niveles donde observamos con detalle la retina neurosensorial verdadera y la retina que se ha diferenciado a partir de la capa externa de la vesícula óptica. (CC, 40x)

Fig.9

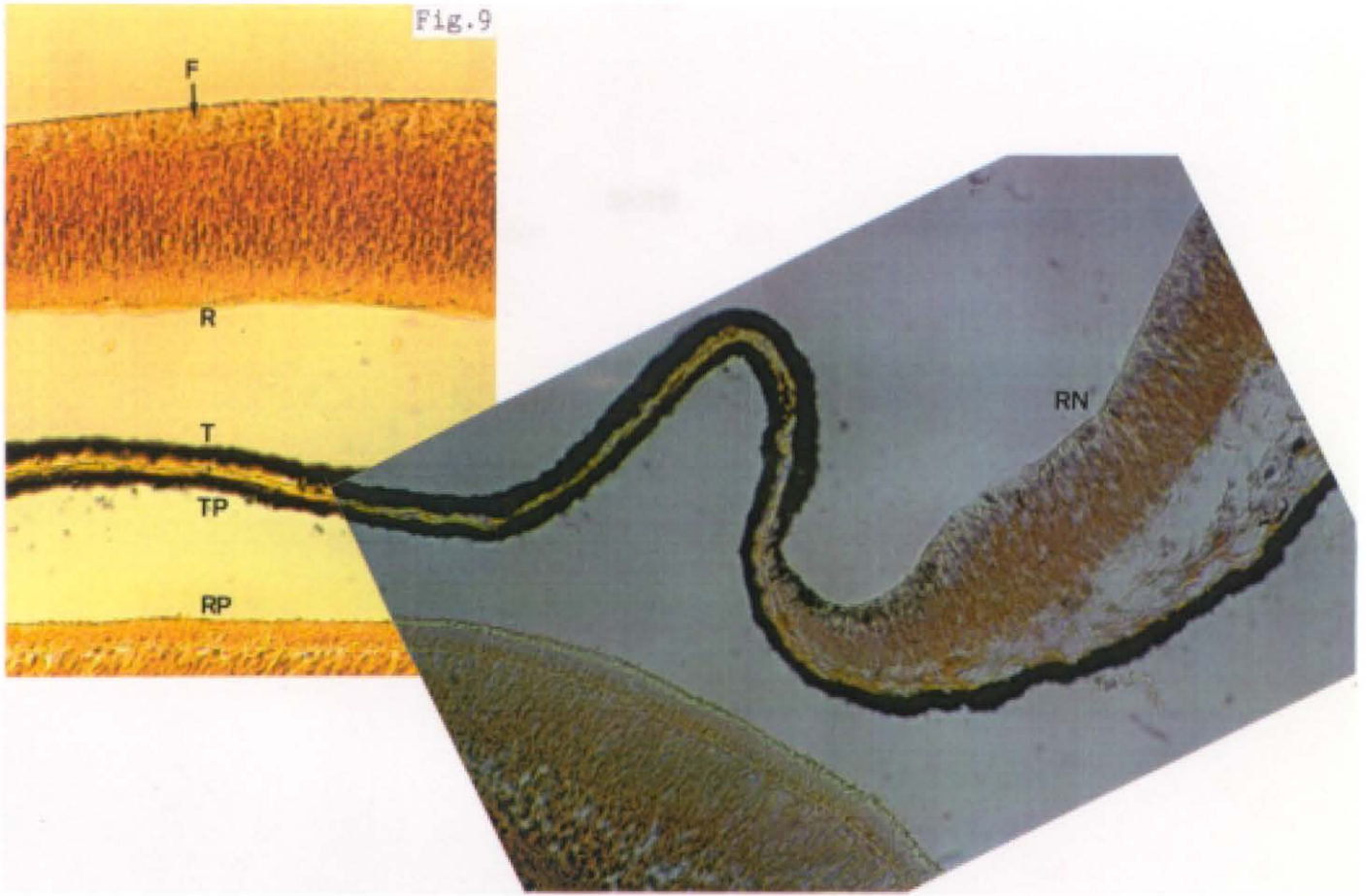


Fig.10

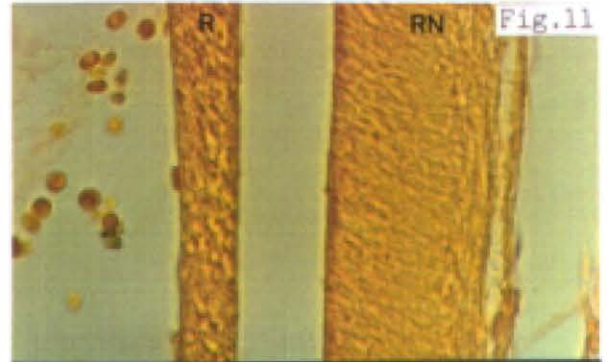


Fig.11

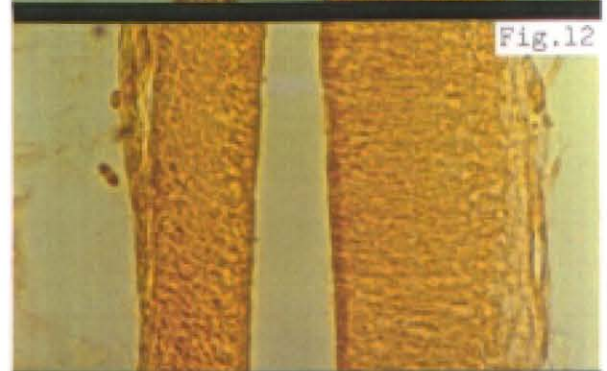


Fig.12

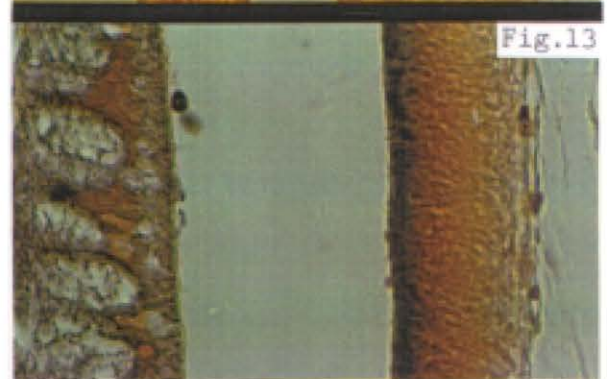
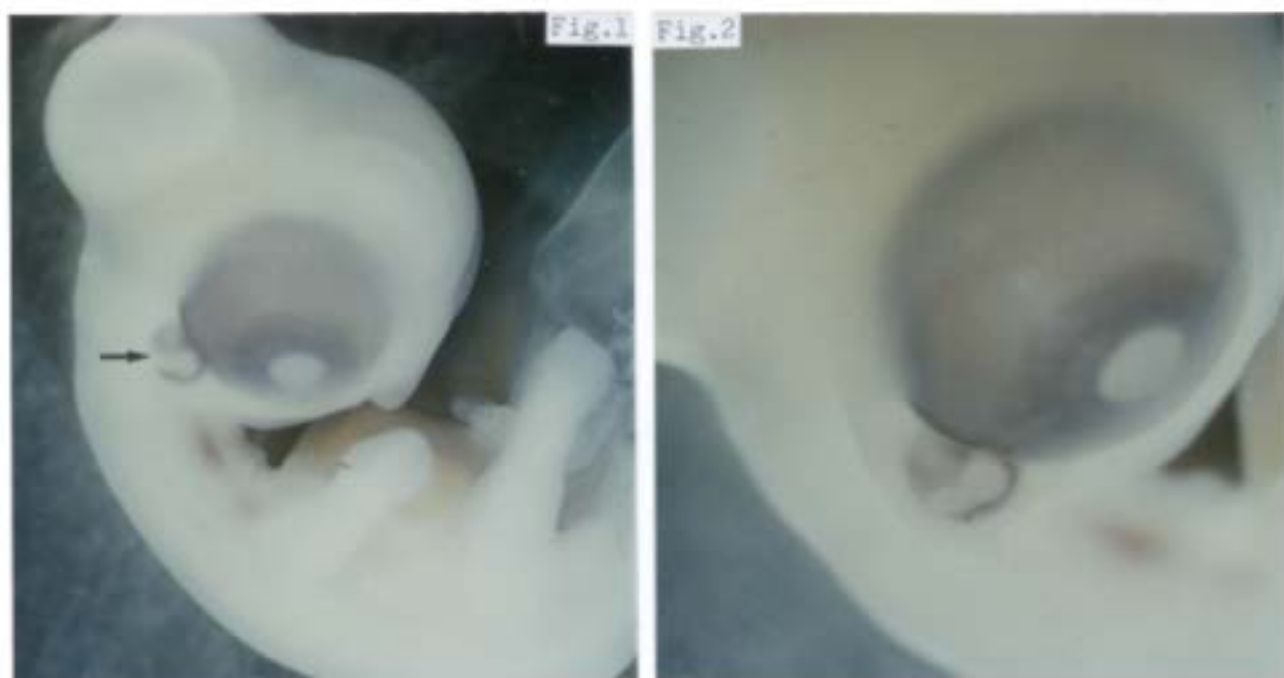


Fig.13



EMBRION O-10

Fig.1: Visión lateral derecha donde se observa la situación del injerto (flecha). (1,2x)

Fig.2: Detalle donde vemos el injerto parcialmente pigmentado en el centro de un acúmulo de tejido de consistencia media. (2,2x)

EMBRION O-10

EMBRION: 0-10

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10+ Z, 17 pares de somitos), en región periocular del globo ocular derecho de un embrión de pollo (E: 19+ HH).

Se reincuba durante 3 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 19+ Z.

Estadio teórico del Receptor: 29-30 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 29 HH.

Junto al ojo derecho del receptor y dorsal a él, vemos que se ha desarrollado una estructura parcialmente pigmentada, semejante a un globo ocular y rodeada por tejido ectomesodérmico.

En el centro del injerto se observa una formación redondeada y de color blanco que podría corresponder al cristalino. Partiendo de él y en dirección dorsal existe una franja carente de pigmento que parece la fisura óptica.

El globo ocular derecho del embrión de pollo es normal, excepto por una falta de tejido junto al injerto, que permite ver con mayor intensidad el tono oscuro del epitelio pigmentado. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Junto al ojo derecho del receptor y dorsal a él, se ha desarrollado un globo ocular rodeado por tejido ectomesodérmico. En contacto con él, aparece una estructura de tipo nervioso. (figuras 3 y 4)

La córnea presenta dos capas celulares separadas por un espacio acelular (aunque no ópticamente vacío) y que corresponde al estrato acelular de la córnea.

La capa externa es gruesa y tiene una o dos hileras de células cúbicas. Esta capa que corresponde al epitelio corneal se continúa periféricamente con el ectodermo superficial.

En la capa interna sólo se distingue una hilera de células planas que se continúan con el mesodermo que rodea los borde de la vesícula óptica. Esta capa corresponde al endotelio corneal. (figuras 4, 6 a 8)

Aunque con este tipo de tinción no podemos identificar su origen, observamos como el mesodermo que rodea los bordes de la vesícula óptica, es más denso que en el resto; lo que sugiere que pueda pertenecer al injerto. (figuras 4, 6 y 7)

El epitelio anterior del cristalino se engruesa a nivel ecuatorial y preecuatorial. Observamos la forma típica de "media luna" que presentan los núcleos de las células de la pared proximal. (figuras 4 y 6 a 8)

Entre la córnea y el cristalino existe un espacio ópticamente vacío que corresponde al esbozo de la cámara anterior. (figuras 4 y 6 a 8)

Rodeando las regiones ecuatorial y preecuatorial del cristalino, existen pequeños acúmulos de una sustancia que capta el colorante y que corresponde al esbozo del vítreo. (figuras 4 y 6)

A partir de la capa interna de la vesícula óptica se ha diferenciado la retina que presenta un aspecto uniforme en la mayor parte de su extensión. (figuras 4 y 5)

En la retina se puede distinguir claramente una delgada capa de fibras ópticas que salen del globo ocular en dirección del pedículo óptico (figuras 5, 10 y 11). No vemos signos claros de estratificación. (figura 5)

En la mayor parte del globo ocular, la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado en epitelio pigmentado; sobre todo en la zona donde están presentes el cristalino y la córnea. (figuras 4 a 6)

En la periferia de la vesícula óptica, el epitelio pigmentado pierde sus características y se engruesa (figuras 3, 9 y 10). En este mismo punto salen las fibras ópticas procedentes de la retina (figura 11). A partir de esa zona podemos identificar el pedículo óptico que se dirige hacia la parte profunda del injerto, donde está la estructura nerviosa con similares características pero de mayor entidad. (figuras 3 y 9)

La estructura que se ha desarrollado junto al globo ocular y que está unida, sin solución de continuidad, con la capa externa de la vesícula óptica, tiene un aspecto similar al sistema nervioso pero carece de un patrón definido. No contacta con ninguna otra estructura y solamente en algunas

zonas se abre al exterior. (figuras 3, 4 y 9)

Fig.3: Corte horizontal oblicuo que muestra el desarrollo del globo ocular y de las estructuras nerviosas derivadas del injerto (flechas). (BBV, 4x)

Fig.4: Detalle donde observamos el globo ocular. (BB, 10x)

Fig.5: Detalle del epitelio pigmentado y retina del injerto separados del receptor por tejido mesodérmico. (BB, 40x)

Fig.6: Detalle del polo anterior del injerto donde vemos el desarrollo del cristalino y de la córnea. (BB, 20x)

Figs.7 y 8: Detalles de la córnea con su epitelio, estroma acelular y endotelio. (BB y BBV, 40x)

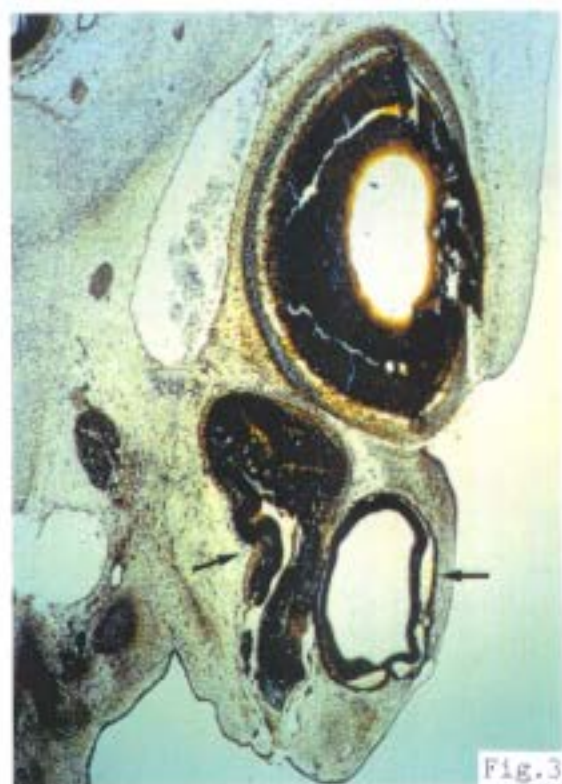


Fig.3



Fig.4

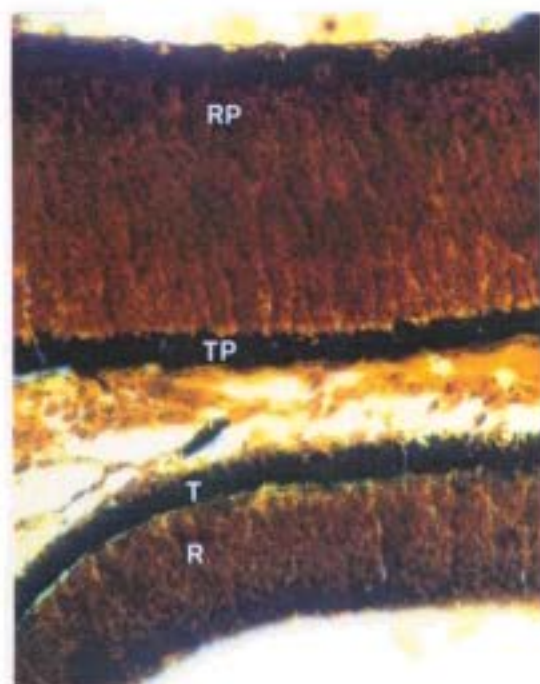


Fig.6

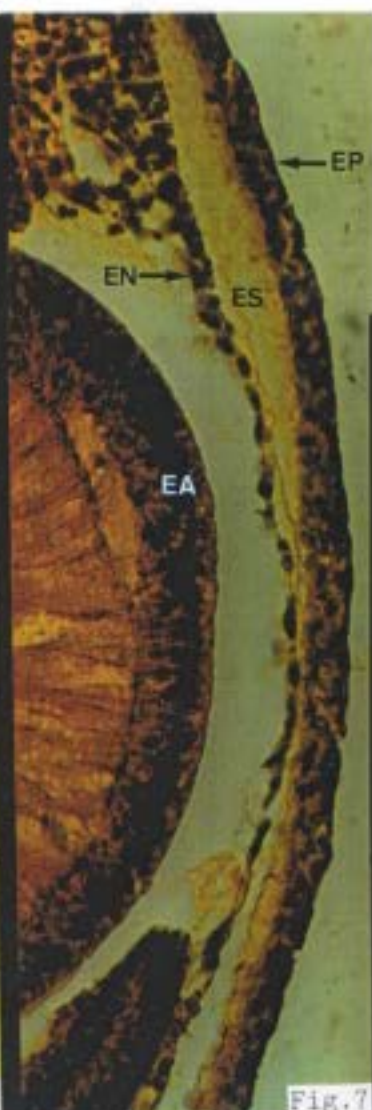


Fig.7

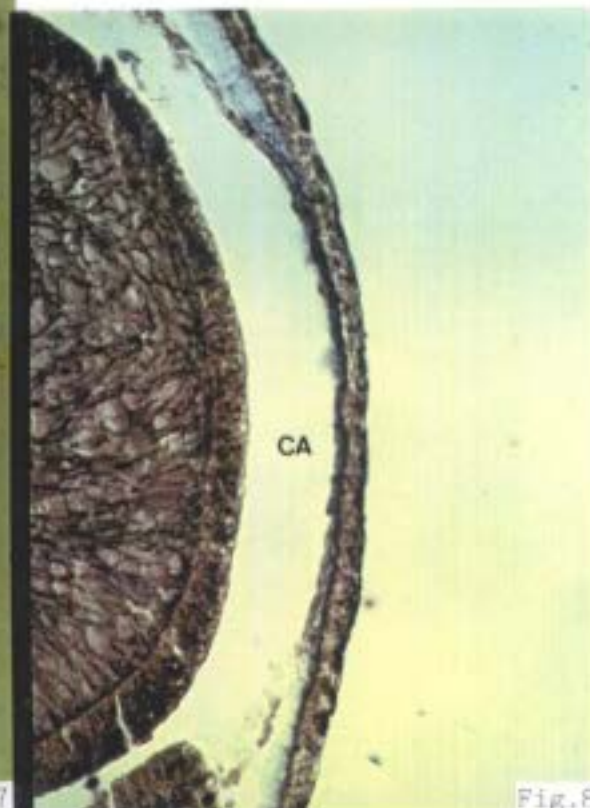


Fig.8

Fig.9: Corte periférico que muestra la zona donde el epitelio pigmentado pierde su aspecto normal y se engruesa (flechas). (BBV, 10x)

Fig.10: Detalle de la zona donde el epitelio pigmentado se une al pedículo óptico. (BB, 40x)

Fig.11: Corte donde vemos como las fibras ópticas de la retina pasan a formar parte del pedículo óptico (flecha). (BBV, 40x)



Fig.9

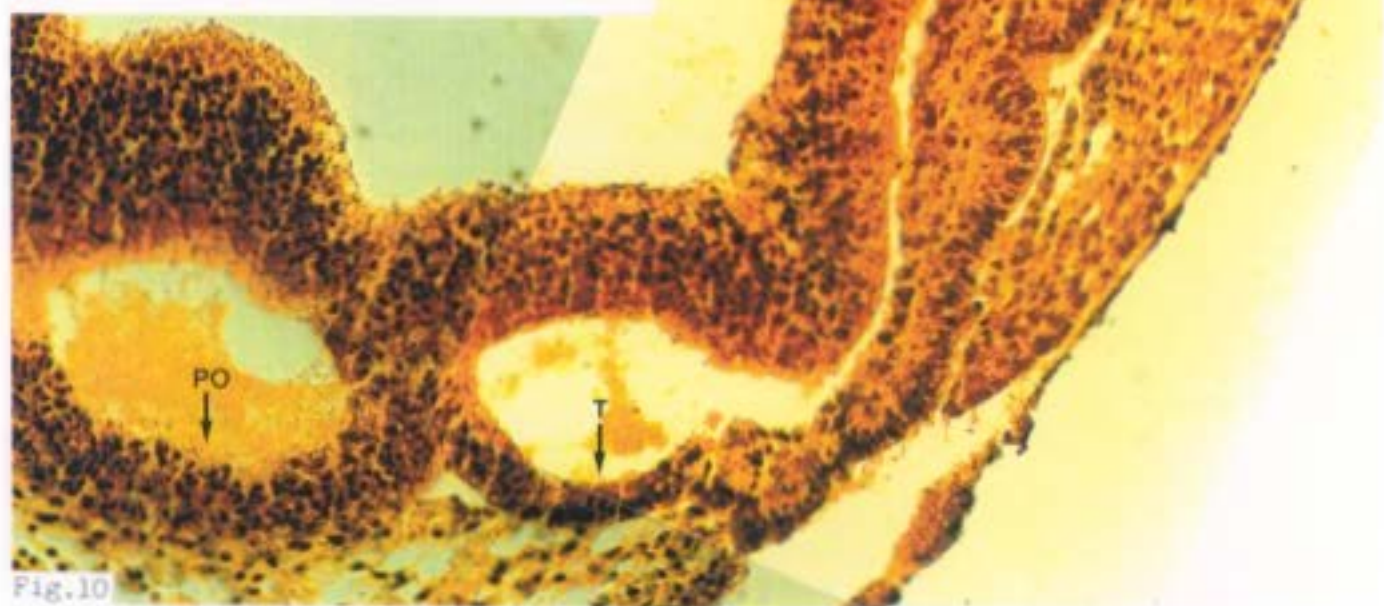


Fig.10

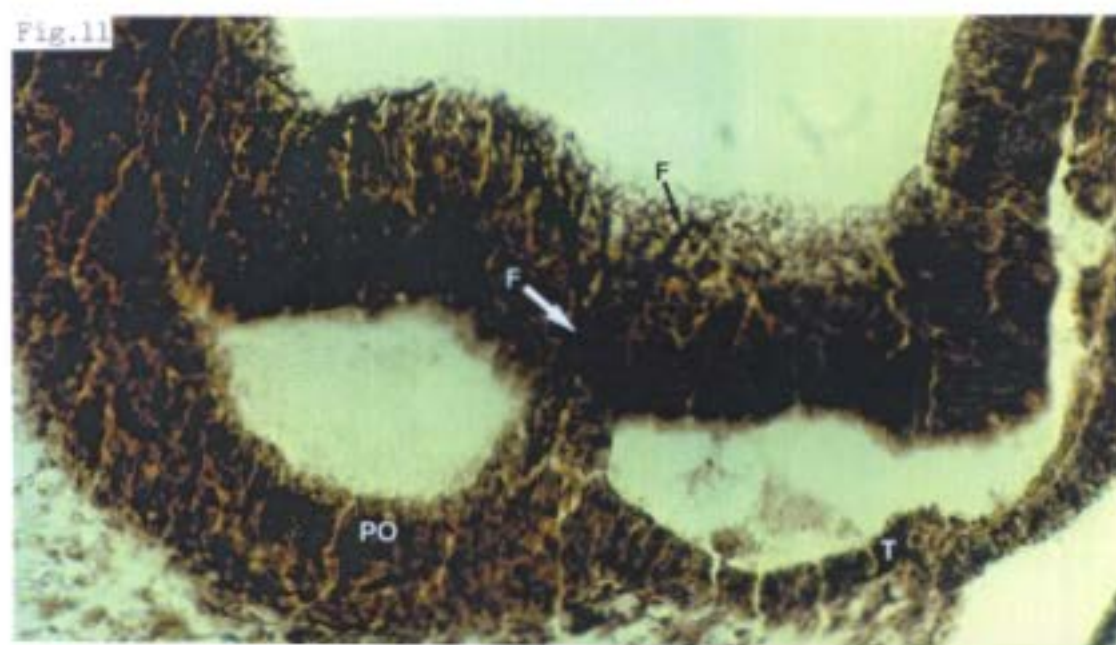


Fig.11

EMBRION O- 39

EMBRION O-39

Fig.1: Visión lateral derecha donde vemos la localización del injerto . (1x)

Fig.2: Detalle del injerto donde destaca la vascularización que presentan ambos globos oculares (flechas). (2,7x)



EMBRION: O-39

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en región periocular del globo ocular derecho de un embrión de pollo (E: 19+ HH).

Se reincuba durante 94 horas. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 21 Z.

Estadio teórico del Receptor: 31-32 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente formado y ha alcanzado el estadio 30 HH.

Junto al globo ocular derecho del receptor y entre éste y el tectum óptico se ha desarrollado el injerto formando un globo ocular. Este globo ocular es más oscuro que el del embrión de pollo y en el centro presenta una formación redonda y blanca que corresponde al cristalino. (figura 1)

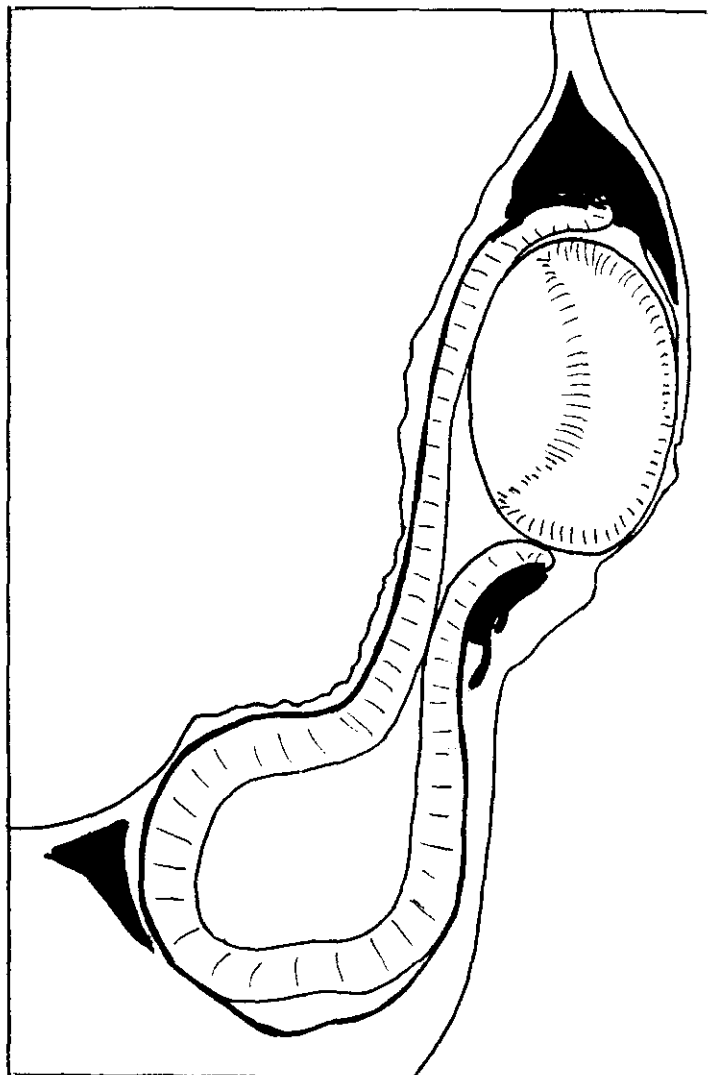
Con más detalle distinguimos unos vasos sanguíneos que irrigan el globo ocular, rodeando el cristalino. Es significativo que esta formación vascular sea prácticamente igual que la del globo ocular del embrión de pollo. (figura 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

A partir del injerto se ha desarrollado un globo ocular que está situado junto al ojo derecho del embrión receptor. (figuras 3, 4 y 10)

Esquema de

1a fig.10



Todo el globo ocular está rodeado por tejido mesodérmico a excepción de la zona donde se encuentra la córnea. Parte de este tejido mesodérmico podemos identificarlo como derivado del injerto (las zonas negras en el esquema de la figura 10); pues sus nucleolos son mucho más evidentes que los nucleolos

de las células mesodérmicas del receptor.

Si nos fijamos en los nucleolos de las células mesodérmicas que rodean el globo ocular, vemos que hay zonas donde son evidentes y zonas en las que es difícil identificarlos. Vamos a estudiar el tejido mesodérmico partiendo de la zona más anterior y basándonos en la observación de los nucleolos.

Sólo se distinguen claramente los nucleolos de las células mesodérmicas situadas: En un triángulo formado por ambos globos oculares (del injerto y del receptor), en la zona dorsal (figuras 9 y 10), y en el acúmulo mesodérmico que rodea los bordes de la vesícula óptica. (figuras 5, 7 y 11)

El cristalino está perfectamente orientado y presenta un desarrollo normal. Los núcleos de las fibras primarias adoptan la forma de "media luna" y a partir de las regiones ecuatorial y preecuatorial del epitelio anterior, aparecen las primeras fibras secundarias. (figuras 4 a 7, 10 y 11)

Para estudiar la córnea, la hemos dividido en tres partes. (figuras 10 y 11)

En la zona 1, de mayor grosor, se observan 3 capas celulares. La externa (epitelio corneal) que se continúa periféricamente con el ectodermo superficial, presenta una hilera de células cúbicas en donde no observamos los nucleolos. La interna (endotelio corneal) tiene una sólo hilera de células planas con nucleolos evidentes; esta capa deriva del mesoderma contiguo. Por último, la capa media (estroma corneal) originado de la segunda oleada mesodérmica del mismo tejido mesodérmico que daba origen al endotelio

corneal. El estroma va adelgazandose según nos acercamos al centro de la córnea y existe un punto (límite entre la zona 1 y 3) donde no observamos mas que el epitelio corneal, habiendo desaparecido endotelio y estroma.

En la zona 2 se observan una o dos hileras de células. En la periferia existen dos: La externa (epitelio corneal) con características similares a la zona 1 y la interna (endotelio corneal) que parece estar iniciando su formación; es decir, parece que comienza la primera oleada mesodérmica. No vemos nucleolos en las células del mesodermo que dan lugar a este endotelio.

Al llegar a la zona 3 (región central de la córnea), sólo se distingue una capa que podría corresponder al epitelio corneal, aunque no se puede asegurar. (figuras 5, 6, 10 y 11)

Como el globo ocular está deformado, la mayor parte del epitelio anterior del cristalino está en contacto con la córnea y no observamos el esbozo de la cámara anterior. (figuras 4 a 6, 10 y 11)

De la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado el epitelio pigmentado. En los bordes es más grueso que el resto y el pigmento tiende a situarse en la superficie que contacta en la capa interna (retina). (figuras 7 a 11)

La retina se ha desarrollado a partir de la capa interna.

No se puede distinguir una ordenación de las células en estratos pero parece que éstas se concentran en los 2/3 internos del espesor retiniano.

En la superficie interna de la retina observamos que la capa limitante interna está parcialmente desprendida y en algunas zonas es posible encontrar una delgada capa de fibras ópticas (figura 9). Aunque estudiando todo el injerto no hemos encontrado ningún indicio de salida de fibras, ni esbozo del pecten. (figuras 7 a 10)

En el interior del globo ocular observamos algunos restos del esbozo del vítreo. (figuras 5, 7 y 10)

Figs.3 y 4: Corte horizontal oblicuo que muestra la localización del injerto (flecha). (FE, 2,1x y 4x)

Fig.5: Detalle del segmento anterior que muestra la orientación y desarrollo del cristalino. (FE, 20x)

Fig.6: Detalle del epitelio anterior del cristalino y de la zona central de la córnea. (FE, 40x)

Fig.7: Detalle de uno de los bordes de la vesícula óptica en el que podemos ver las características de las células del mesodermo contiguo y como se diferencia del mesodermo que está en contacto con el ectodermo superficial. (FE, 40x)

Fig.8: Corte que muestra las diferencias entre la pared del globo ocular del receptor (arriba) y del injerto (abajo). (FE, 40x)

Fig.9: Detalle de la retina neurosensorial, epitelio pigmentado y parte del mesodermo, en la zona más posterior del injerto. (FE, 40x)

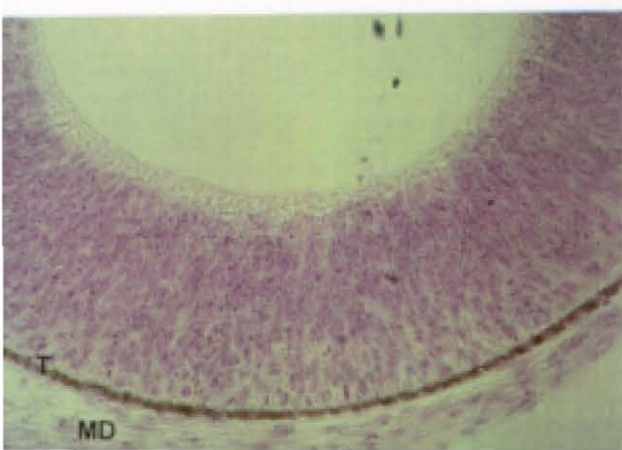
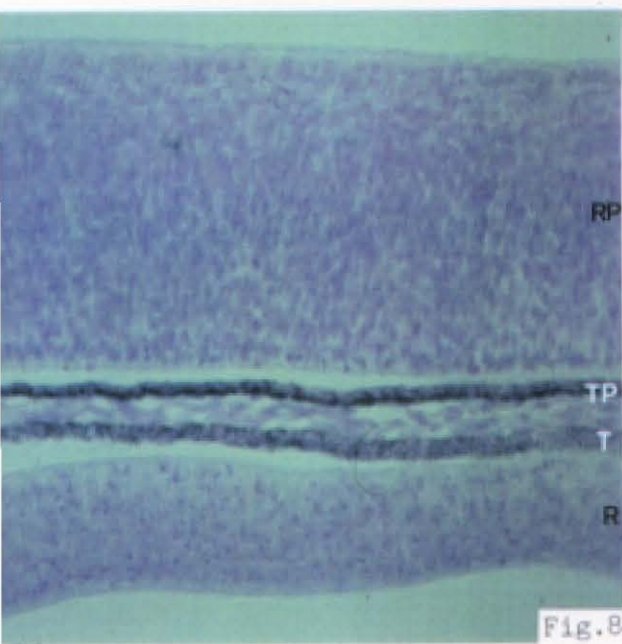
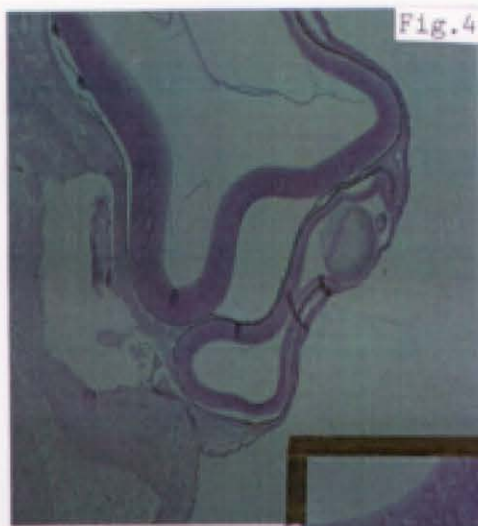
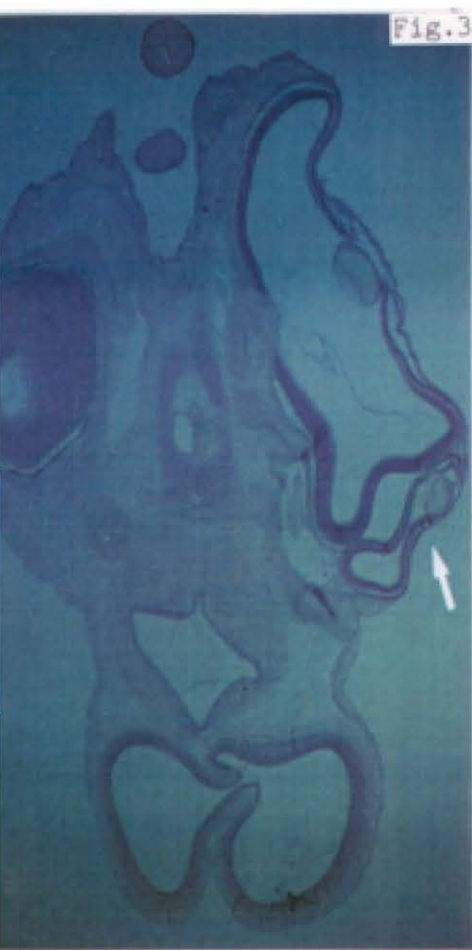


Fig.10: Corte que muestra todas las estructuras que se han desarrollado a partir del injerto. (FE, 10x)

Fig.11: Montaje fotográfico que permite observar con detalle toda la estructura de la córnea (que hemos dividido en 3 zonas para facilitar su descripción) y del tejido mesodérmico que se encuentra en la periferia corneal. (FE, 40x)

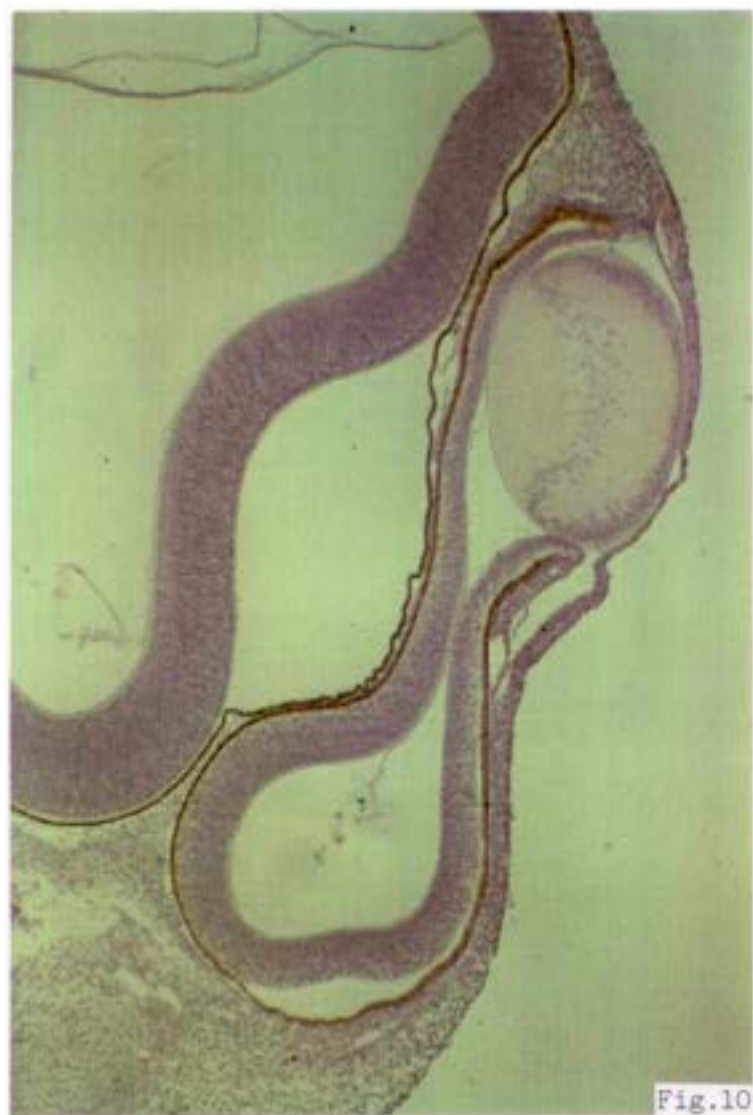


Fig.10

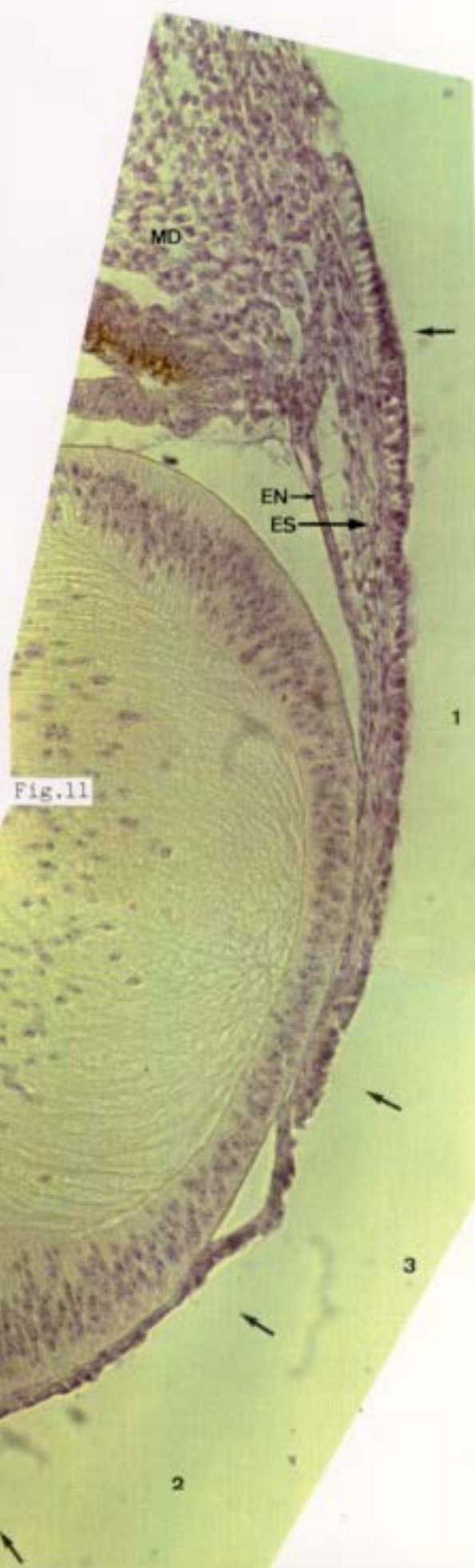
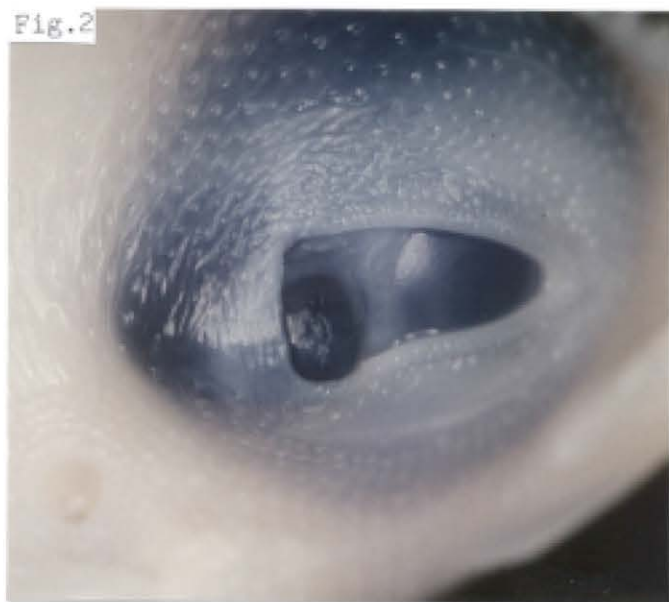


Fig.11

EMBRION O-88



EMBRION O-88

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza desplumada, donde vemos la deformación de la hendidura palpebral y la localización del injerto. (1x)

Fig.2: Detalle que muestra como parte del injerto asoma por la hendidura palpebral, mientras que el resto está oculto por los párpados. (2x)

EMBRION: O-88

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10+ Z, 17 pares de somitos), en región periocular del globo ocular derecho de un embrión de pollo (E: 20 HH).

Se reincuba durante 12 días. Al abrir el huevo el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 30+ Z.

Estadio teórico del Receptor: 41-42 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 40+ HH.

En la parte posterior del globo ocular derecho del receptor se han desarrollado esbozos pigmentados de plumas.

La hendidura palpebral izquierda está cerrada, por el contrario la derecha está abierta y deformada, como un triángulo de base posterior.

Al desplumar la cabeza vemos que a través de la hendidura palpebral se distingue la córnea del receptor pero no la membrana nictitante. En la parte posterior de la hendidura asoma una estructura redondeada y más pigmentada que el globo ocular del receptor. El resto del injerto está cubierto por los párpados. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El cartílago escleral del ojo derecho del receptor engloba gran parte del injerto. (figura 3 y 4)

Si comparamos el tamaño de los globos oculares del receptor, vemos que el derecho parece más pequeño que el izquierdo. (figura 3)

La morfología de ambas membranas nictitantes es muy similar. (figura 3)

En el interior del globo ocular desarrollado a partir del injerto observamos la presencia del cuerpo vítreo. La morfología del vítreo es igual a la que vemos en los globos oculares del embrión receptor. (figuras 3 y 4)

Parte del epitelio anterior del cristalino está en íntimo contacto con la córnea, no identificándose a ese nivel el endotelio. Esta zona coincide además con la presencia de alteraciones en estroma y epitelio. (figuras 4 y 5)

La córnea alterada presenta un gran espesor, mayor incluso que el de las córneas del receptor. (figura 3)

En el estroma, sobre todo en la mitad externa, aparecen numerosas vacuolas ópticamente vacías. El epitelio está desestructurado y parcialmente desprendido. (figura 5)

El resto de la córnea presenta una morfología normal de todas sus capas. Observamos que existe mayor densidad de células en la mitad externa del estroma. (figura 5)

La cámara anterior está muy alterada por la unión del cristalino a la córnea y de algunas zonas del iris a la pared del globo ocular. (figuras 4 y 5)

El epitelio anterior del cristalino aparece parcialmente separado de las fibras cristalinianas. A pesar de ello las regiones ecuatorial y preecuatorial conservan un grosor superior al de la zona central. Las fibras primarias están comprimidas por las fibras secundarias. (figura 5)

En unas zonas el iris se ha diferenciado normalmente con gran desarrollo de su epitelio pigmentado y del estroma. Aunque como es habitual no se distingue la *pars iridae retinae*. Pero en la zona donde el epitelio anterior del cristalino está unido al endotelio corneal, el iris aparece pegado a la pared interna del globo ocular, por lo que sólo se distingue con nitidez su epitelio pigmentado. (figuras 4 y 5)

Los procesos ciliares no presentan ninguna alteración en su desarrollo, y formando parte de su pared se distinguen perfectamente la *pars ciliaris retinae*, el epitelio pigmentado y el estroma, en donde se observan algunos vasos sanguíneos de gran calibre. (figuras 4 y 5)

El epitelio pigmentado del injerto presenta sus características típicas; es decir, cuando está en contacto con la retina neurosensorial su espesor es menor que a nivel de la retina ciega, procesos ciliares e iris. (figuras 4, 5, 8 y 9)

Existe una pequeña zona del epitelio pigmentado, donde esta capa, sin solución de continuidad en ambos extremos, pierde espontáneamente el pigmento y aumenta de calibre. En su espesor se desarrollan gran número de células que se concentran sobre todo en la mitad interna. (figura 6)

El epitelio pigmentado se transforma, sin solución de continuidad, en una estructura que presenta una morfología semejante a la retina pero invertida; parece una imagen especular de la retina verdadera que se encuentra enfrente suyo. (figuras 6 y 7)

La retina neurosensorial presenta una estructura en capas. En su espesor observamos perfectamente los artículos externos de los fotorreceptores, pero las células ganglionares son escasas y la capa de fibras ópticas muy fina. (figuras 7 a 9)

Debido al proceso histológico, parte de la retina neurosensorial está desprendida del epitelio pigmentado; sin embargo, la retina ciega permanece fuertemente unida al epitelio pigmentado. (figuras 4 y 8 a 10)

La *pars terminalis retinae* se realiza de forma brusca en un punto. Esa zona coincide con el desprendimiento de la retina neurosensorial. (figuras 9 y 10)

Tras revisar todo el injerto no hemos encontrado indicios del pecten, ni un lugar por donde salgan las fibras ópticas del globo ocular.

Fig.3: Corte horizontal donde observamos la situación del injerto y el tamaño de los globos oculares del receptor. (BB, 0,66x)

Fig.4: Corte donde vemos como a partir del injerto se ha desarrollado un globo ocular prácticamente normal (la flecha corresponde a la figura 6). (BB, 2x)

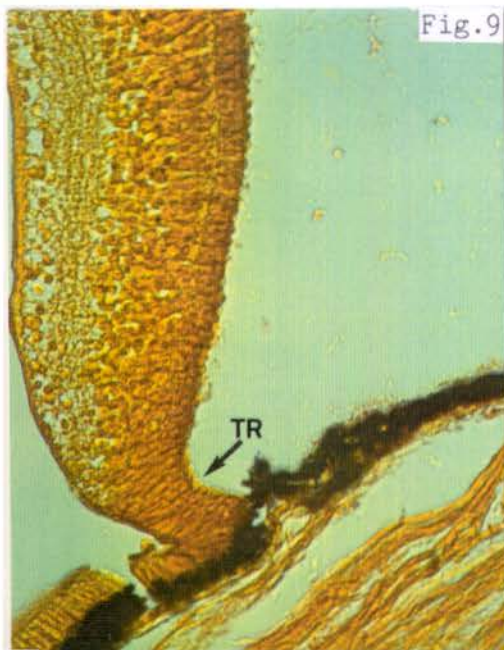
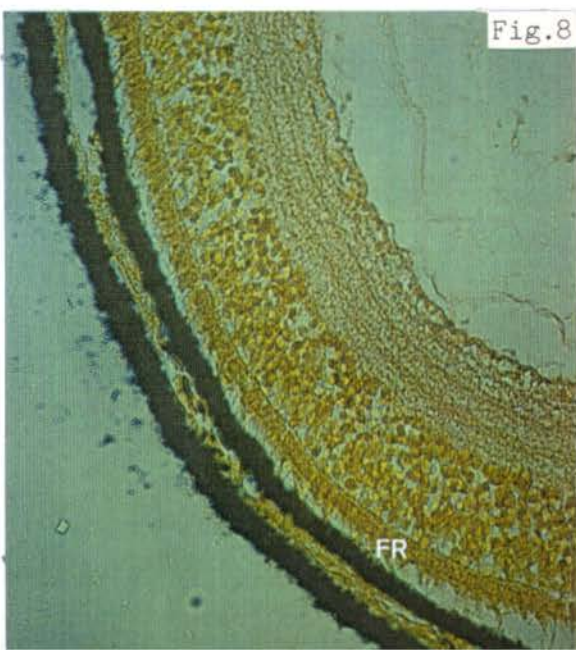
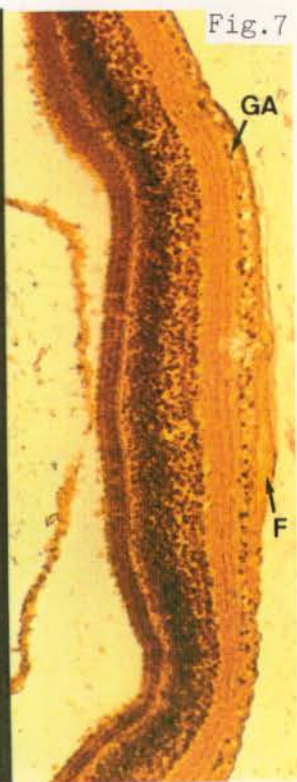
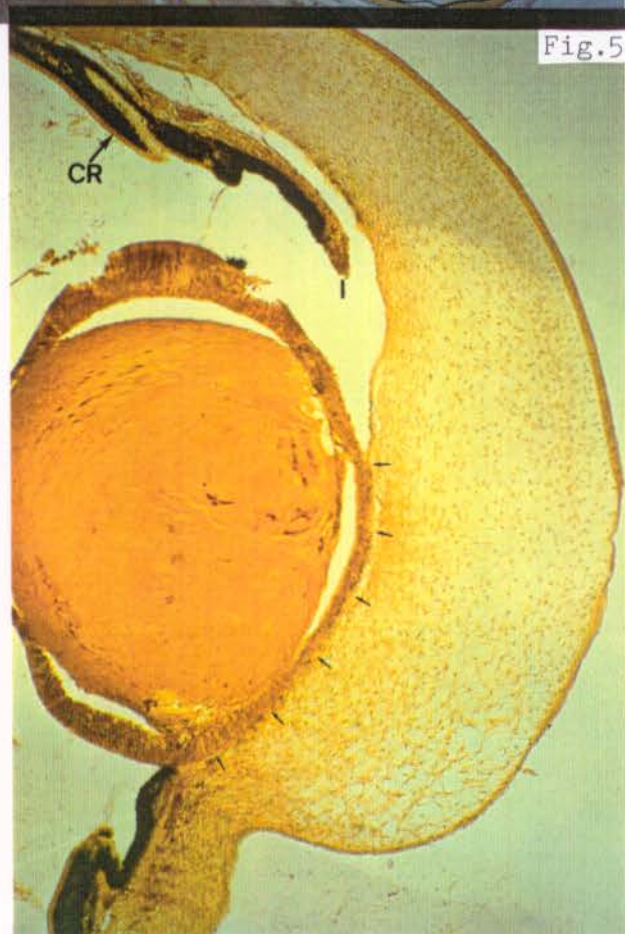
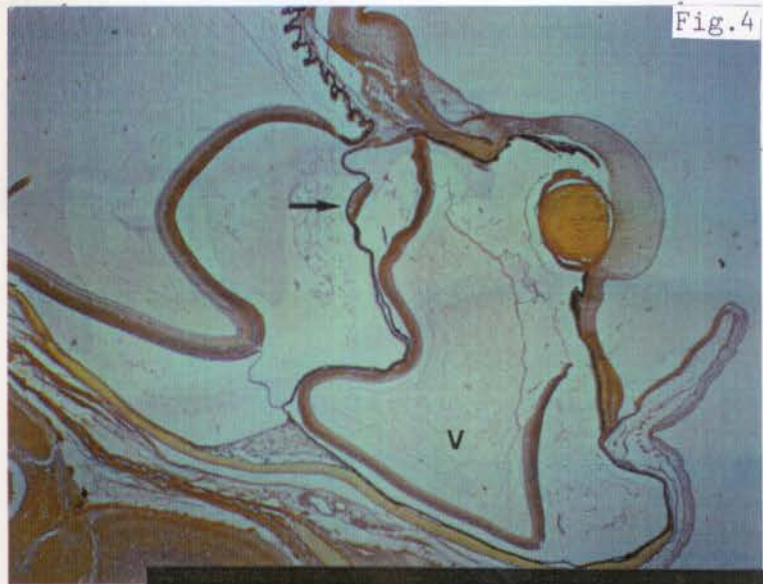
Fig.5: Corte del segmento anterior que muestra un importante edema corneal en la zona donde el cristalino está en contacto con la córnea (flechas). (BB, 10x)

Fig.6: Detalle de la zona de transformación (sin solución de continuidad) del epitelio pigmentado en una estructura que se asemeja a una retina invertida. (BB, 20x)

Fig.7: Detalle de la retina neurosensorial que se encuentra justo enfrente a la zona descrita en la figura 6. (BB, 20x)

Fig.8: Detalle de la retina neurosensorial donde vemos la perfecta ordenación de sus capas. (BB, 40x)

Figs.9 y 10: Detalles de la *pars terminalis retinae*. (BB y BBV, 40x)



EMBRION O-77

EMBRION: O-77

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en región periocular del ojo derecho de un embrión de pollo (E: 21 HH).

Se reincuba durante 12 días. Al abrir el huevo, el embrión está muerto, aunque no se observan señales de maceración ni descomposición y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 30+ Z.

Estadio teórico del Receptor: 41-42 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 41 HH.

En la parte posterior del ojo derecho del receptor se han desarrollado algunos esbozos pigmentados de plumas.

La hendidura palpebral izquierda está cerrada, mientras que la derecha está abierta y deformada. A través de la cual vemos casi toda la córnea del receptor, pero no la membrana nictitante.

Al desplumar la cabeza aparece, en la parte posterior del ojo derecho, una estructura redonda y muy pigmentada que ha crecido recubierta por los párpados y la piel. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En este embrión destaca la alteración de los tejidos, causada por la muerte del embrión horas antes de su fijación.

El cartílago escleral del ojo derecho del receptor finaliza en el punto donde se ponen en contacto el injerto y el ojo derecho. (figuras 3 y 4)

No se ha desarrollado córnea, pues todo el injerto está cubierto por la piel del receptor. (figura 5)

A pesar de la ausencia de córnea, el cristalino está bien orientado, aunque la cápsula posterior está parcialmente deformada. (figura 6)

Las fibras primarias, comprimidas por las secundarias, tienen una localización excéntrica. En general la disposición de las fibras cristalinianas recuerda la imagen en "capas de cebolla". (figura 6)

El epitelio anterior se engruesa a nivel ecuatorial y preecuatorial. Lo más característico del cristalino es el hecho de que parte del epitelio pigmentado se adhiere fuertemente al epitelio anterior y a la cápsula posterior.

La unión entre ambas estructuras es tan fuerte que la retracción del proceso histológico arrastra y arranca parcialmente una zona del ecuador lo que provoca la deformación del cristalino y el abombamiento de parte de la cápsula posterior. (figuras 5 y 6)

Las alteraciones que presenta el segmento anterior del injerto hacen difícil identificar el iris, aunque podría situarse a ambos lados del cristalino en el punto donde los bordes de la vesícula óptica se curvan. (figuras 4 a 6)

Hemos observado algunos pliegues que corresponden a los procesos ciliares. En el espesor de su pared se distingue el estroma, el epitelio pigmentado y la *pars ciliaris retinae*. (figuras 5 y 7)

Como ya hemos comentado, una porción del epitelio pigmentado se adhiere fuertemente al cristalino y la otra se sitúa en la posición normal teórica que correspondería al borde de la vesícula óptica. (figuras 4 a 6)

En todo el segmento anterior el epitelio pigmentado presenta un gran espesor, que contrasta con el que recubre a la retina neurosensorial. (figuras 4 y 5)

Casi toda la retina neurosensorial se ha desprendido del epitelio pigmentado y está colapsada en el centro de la cavidad vítrea. En su pared se distinguen la capa de los fotorreceptores y sus artículos externos. En la superficie interna se observan pocas células ganglionares y la limitante interna unida al vítreo. (figuras 4, 5 y 8)

La retina ciega acompaña (aunque separada) al epitelio pigmentado que se pone en contacto con el cristalino, mientras que en el epitelio pigmentado que continúa junto al receptor no existen indicios de la capa interna de la vesícula óptica. (figuras 4 a 6)

El cuerpo vítreo está rodeado por la retina neurosensorial y por la retina ciega que acompaña (aunque desprendida) al epitelio pigmentado que se dirige al ecuador del cristalino. En la zona centra, el vítreo ha perdido las características típicas de esta estructura que sí están conservadas en la mayor parte de la periferia. La hialoides

vítrea se encuentra parcialmente colapsada. (figuras 4, 5 y 8)

Tras estudiar todo el injerto, no hemos encontrado ninguna estructura que pueda corresponder al pecten ni al nervio óptico.

EMBRION O-77

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza desplumada donde observamos el injerto como una estructura redonda y muy oscura sobre el ojo derecho del receptor y cubierta por la piel y los párpados. (1x)

Fig.2: Detalle que muestra la deformación de la hendidura palpebral y la situación del injerto. (1,8x)

Fig.3: Corte horizontal oblicuo donde vemos que el injerto se ha desarrollado entre el ojo derecho y el tectum óptico del receptor. (BB, 0,7x)

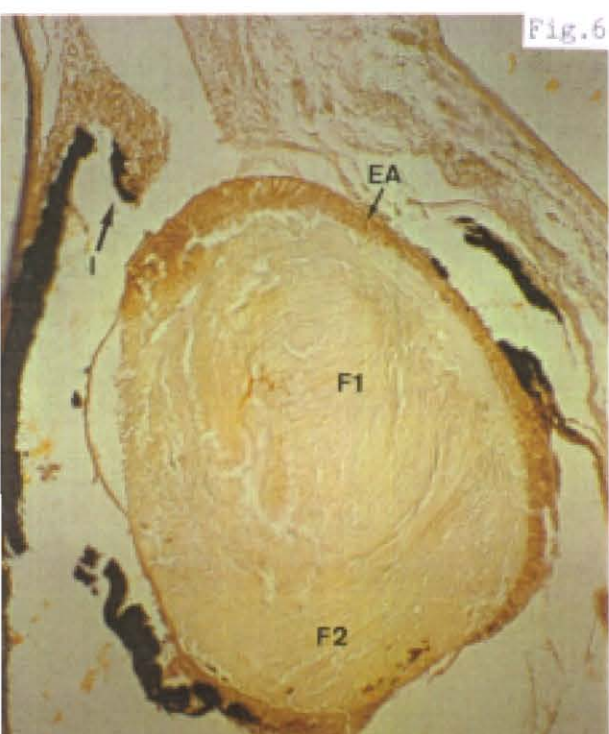
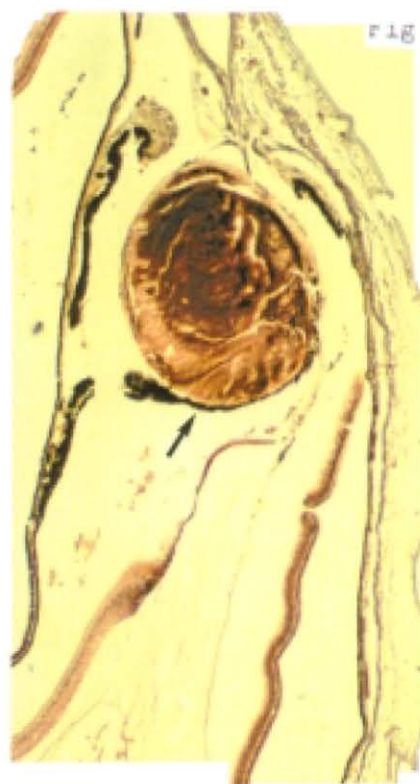
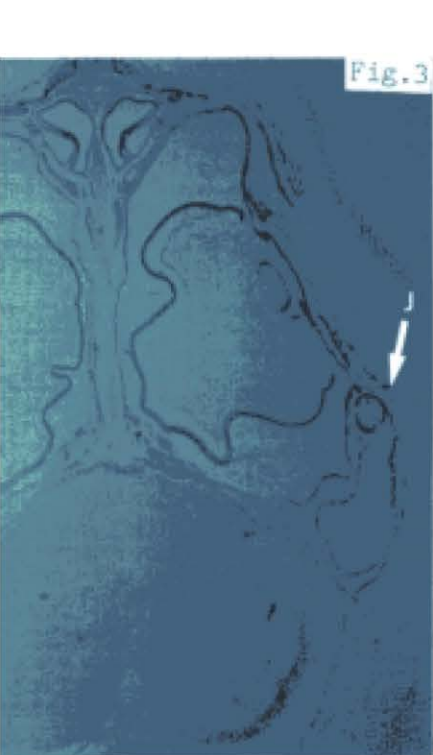
Fig. 4: Corte que muestra como las estructuras que se han diferenciado a partir del injerto están alteradas porque el embrión había muerto en el huevo. (BBV, 2x)

Fig.5: Detalle del segmento anterior donde observamos que el epitelio pigmentado se adhiere fuertemente al cristalino (flecha). (BBV, 4x)

Fig.6: Detalle del cristalino en el que vemos que está orientado hacia el exterior y como el epitelio pigmentado lo rodea parcialmente. (BB, 10x)

Fig.7: Detalle de los procesos ciliares donde observamos el epitelio pigmentado y la *pars ciliaris retinae*. (BB, 40x)

Fig.8: Detalle de la retina neurosensorial donde vemos la escasez de células ganglionares y el desprendimiento de la hialoides vitrea (flecha). (BB, 40x)



EMBRION O- 37

EMBRION O-37

Fig.1: Visión lateral derecha del embrión donde vemos el tamaño y la situación del injerto (flecha). (1x)

Fig.2: Detalle del injerto que muestra un cristalino irregular en el centro (flecha) y algunos vasos sanguíneos (2,7x)



EMBRION: O-37

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 11 Z, 19 pares de somitos), en región periocular del ojo derecho de un embrión de pollo (E: 18 HH).

Se reincuba durante 4 días. Al abrir el huevo el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 21 Z.

Estadio teórico del Receptor: 30-31 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 30 HH.

El injerto se ha desarrollado junto al ojo derecho del receptor y está situado entre éste y el tectum óptico.

El injerto presenta límites irregulares y un color más oscuro que el ojo del embrión receptor. A través del orificio pupilar que existe en el centro, se observa una estructura blanca que corresponde al cristalino.

Del borde dorsal del injerto parten unos vasos sanguíneos que rodean el orificio pupilar. (figuras 1 y 2)

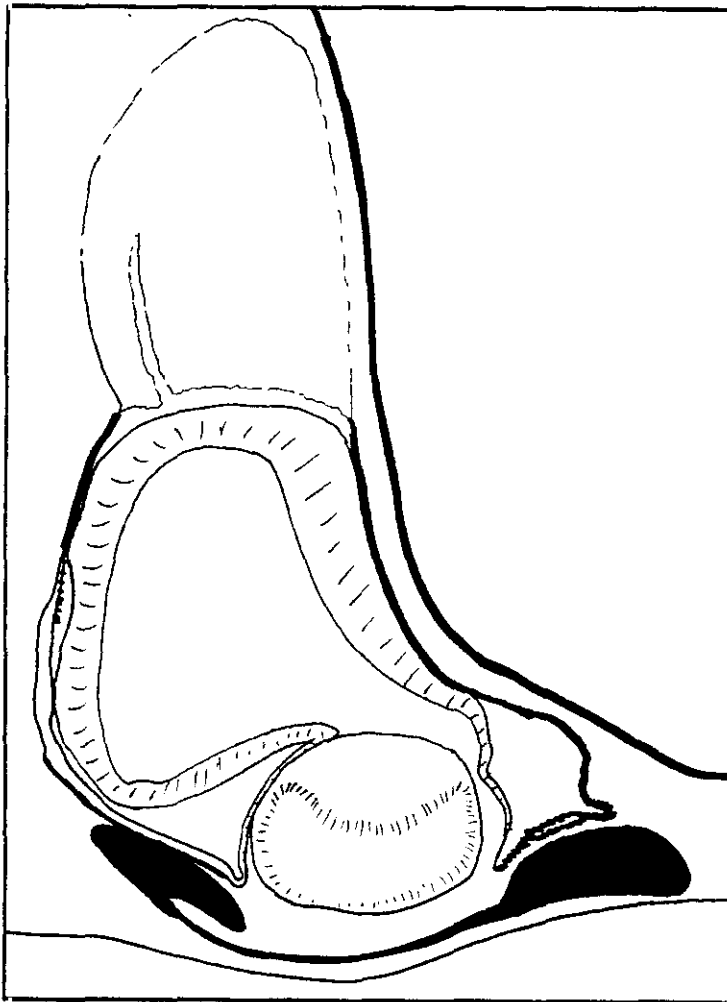
ESTUDIO MICROSCOPICO:

A partir del injerto que ha crecido junto al ojo derecho del receptor, se ha desarrollado un globo ocular y detrás una estructura que tiene aspecto de tejido nervioso. (figuras 3, 4, 8, 9 y 13 a 15)

El tejido mesodérmico que pertenece al injerto se sitúa sobre los bordes de la vesícula óptica. En el esquema de la figura 4, las zonas negras muestran el mesodermo del injerto.

Esquema de

la fig.4



La zona central de la córnea presenta dos capas celulares separadas por una capa acelular. En la capa externa, correspondiente al esbozo del epitelio corneal, vemos una o

dos hileras de células cúbicas que periféricamente se continúan con el ectodermo superficial.

La capa interna con una sola hilera de células planas, corresponde al esbozo del endotelio corneal y periféricamente se continúa con el mesodermo que cubre los bordes de la vesícula óptica.

La capa acelular que separa epitelio y endotelio, es el estrato acelular de la córnea y en su periferia vemos como células procedentes del mesodermo que rodea los bordes de la vesícula óptica están penetrando en su espesor. (figuras 6 y 7)

Si nos fijamos detenidamente, las células del futuro endotelio corneal presentan en su interior nucleolos claramente visibles. Lo mismo ocurre con las células mesodérmicas que se introducen en el estrato acelular de la córnea. Sin embargo, es difícil ver algún nucleolo en las células del futuro epitelio. (figuras 4 a 7)

Es importante destacar que del mesodermo que cubre uno de los bordes de la vesícula óptica surge una prolongación de células que forman el endotelio corneal y que penetran en el espesor del estrato acelular. (figura 6)

El cristalino está orientado hacia la superficie externa del embrión; su epitelio anterior es más grueso en las regiones ecuatorial y preecuatorial y los núcleos de las fibras cristalinas adoptan la forma de "media luna" típica. (figuras 4 y 5)

Parte de la retina del borde de la vesícula óptica se separa del epitelio pigmentado y se une a la zona ecuatorial del cristalino. (figuras 4 y 5)

En cortes más distales del cristalino, donde sólo se observan las fibras, gran parte del mismo está en íntimo contacto con ambas capas de la vesícula óptica e incluso parecen fusionarse. (figura 13)

Vemos que el esbozo de la cámara anterior aparece como un espacio ópticamente vacío delimitado por la córnea, el cristalino y los bordes de la vesícula óptica con el mesodermo que los rodea. (figuras 3 a 7)

En el interior del globo ocular del injerto se ha desarrollado una estructura que capta de forma tenue el colorante. Esta estructura que está parcialmente colapsada corresponde al cuerpo vítreo. (figuras 4, 8 y 13 a 15)

Sólo en los bordes de la vesícula óptica y en la zona donde el injerto se ha desarrollado junto al ojo derecho del receptor, la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado en un epitelio pigmentado típico. (figuras 4, 5, 9 y 10)

En los bordes de la vesícula óptica, donde la retina está separada del epitelio pigmentado, el pigmento se sitúa en la superficie externa de las células. (figuras 5 a 7)

En la región opuesta al ojo derecho del receptor, la capa externa aumenta de espesor y pierde la mayor parte del pigmento. Esta transformación hace que la capa externa de la vesícula óptica se parezca más a la retina neurosensorial que al epitelio pigmentado. (figuras 4 y 11 a 15)

En la porción más interna del globo ocular del injerto, el epitelio pigmentado se continúa con la estructura nerviosa que se ha desarrollado a ese nivel. (figuras 4, 8, 9 y 13 a 15)

Finalmente en la superficie externa del injerto y en cortes periféricos, vemos que el epitelio pigmentado parece fusionarse con la retina (parcialmente pigmentada) y con la superficie del cristalino. (figura 13)

A partir de la capa interna de la vesícula óptica del injerto se ha diferenciado la retina que presenta varios detalles que queremos destacar.

En los bordes de la vesícula óptica, se separa de la capa externa a la vez que disminuye de grosor. En uno de los bordes, la retina ciega se pega al ecuador del cristalino. (figuras 4 y 5)

Esa invaginación de la retina se acentúa y en la periferia del injerto podemos observar (al ser una visión bidimensional) que existen dos cavidades vítreas con cuerpo vítreo en su interior. (figuras 13 a 15)

En algunas zonas, la retina neurosensorial que se desarrolla junto al epitelio pigmentado normal es más gruesa y parece estar más diferenciada que la retina desarrollada junto al epitelio pigmentado engrosado. (figuras 10 a 12)

No observamos una estratificación en capas de la retina neurosensorial, aunque existe mayor densidad de células en la mitad interna. En la superficie interna hay una fina capa acelular que puede corresponder a las fibras ópticas. (figura 10)

Fig.3: Corte horizontal oblicuo donde observamos el desarrollo y la localización del injerto (flecha). (FE, 2x)

Fig.4: Corte donde vemos que a partir del injerto se ha desarrollado un globo ocular y una estructura nerviosa unida a él. (FE, 10x)

Fig.5: Detalle del segmento anterior que muestra el desarrollo del cristalino y córnea. Observamos como uno de los bordes de la vesícula óptica está contactando con el ecuador del cristalino. (FE, 20x)

Figs.6 y 7: Detalle de los extremos de la córnea donde vemos la situación de las células con nucleolos evidentes que proceden del injerto. (FE, 40x)

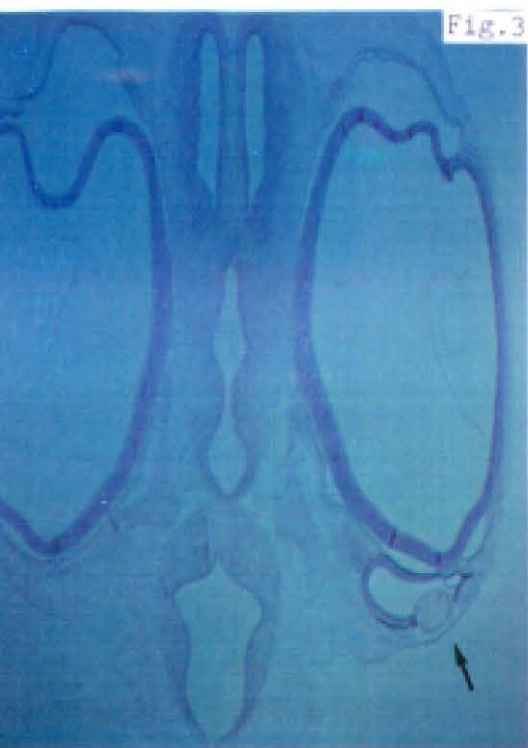


Fig.3



Fig.4

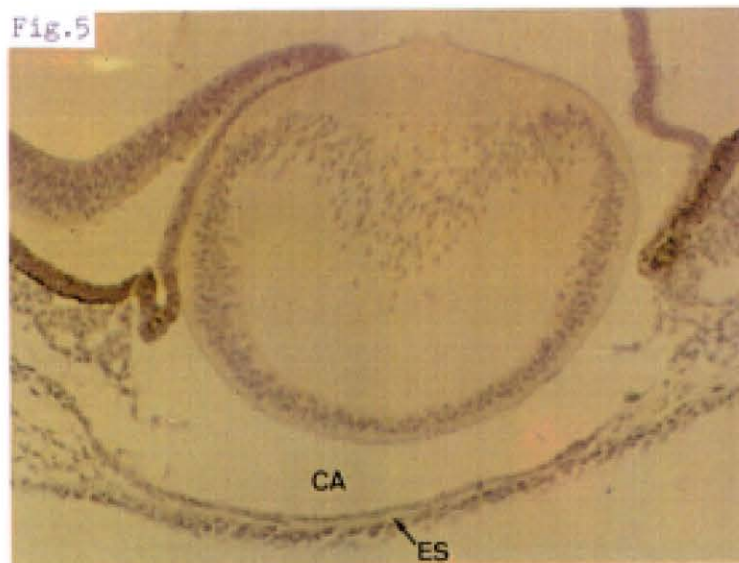


Fig.5

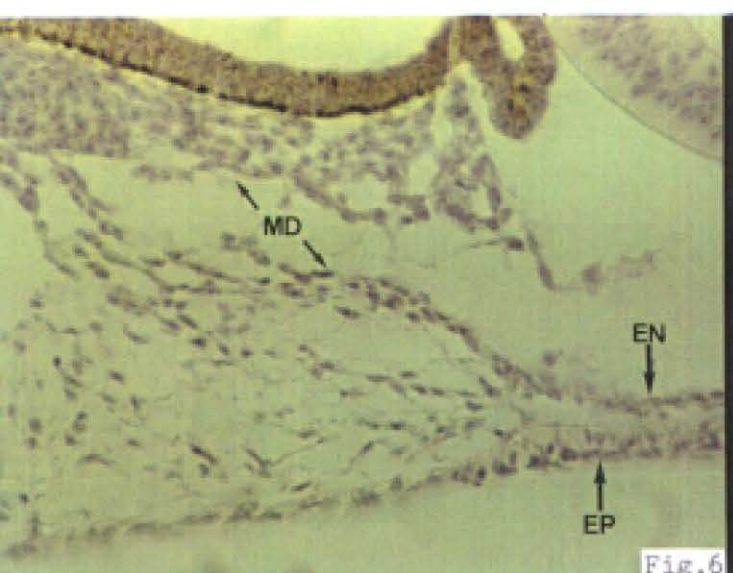


Fig.6

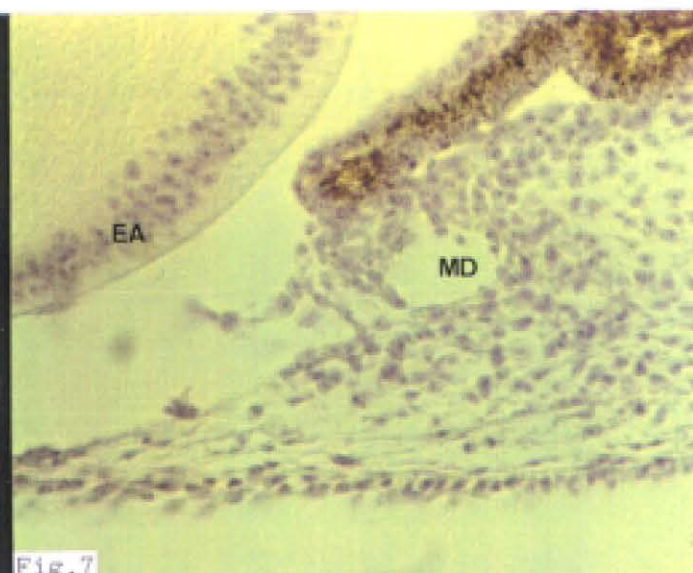


Fig.7

Figs.8 y 9: Corte donde vemos que el epitelio pigmentado se continúa con la estructura nerviosa (flechas). (SM y FE, 20x)

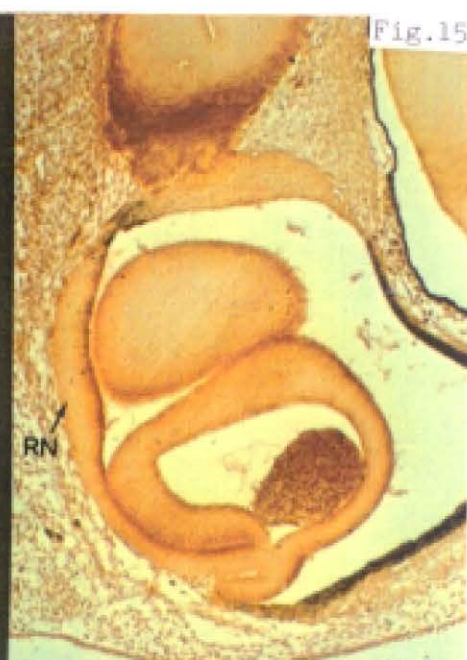
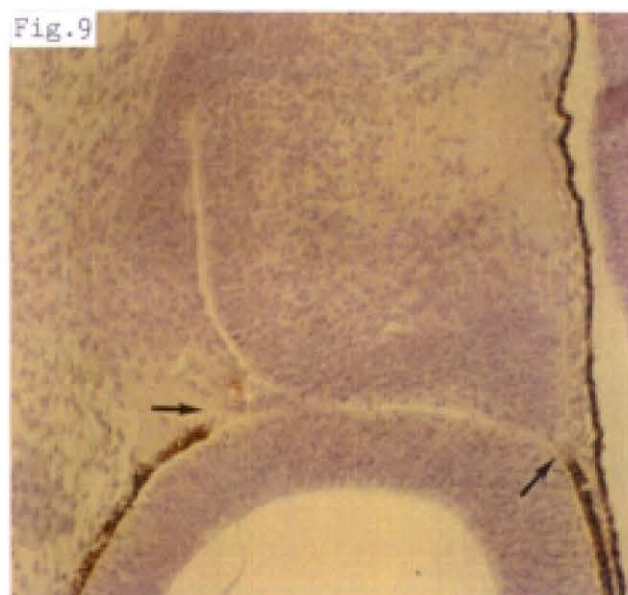
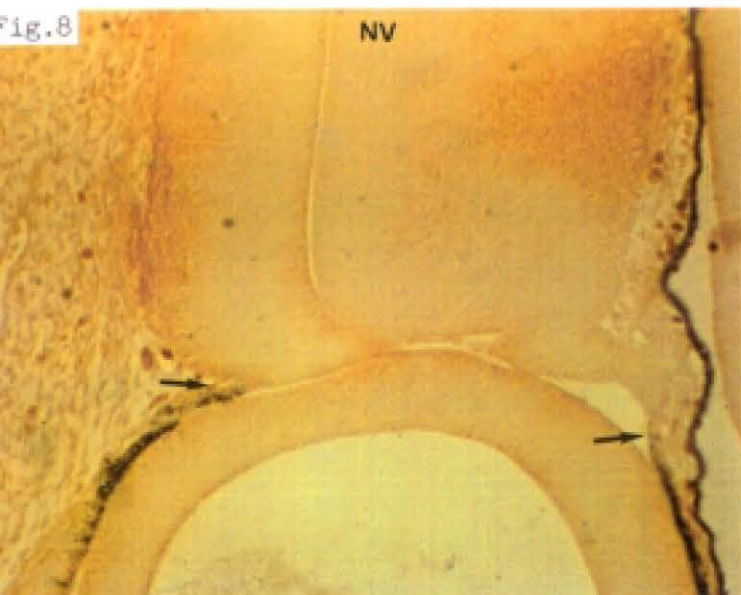
Fig.10: Detalle de la retina neurosensorial y del epitelio pigmentado del injerto. (FE, 40x)

Figs.11 y 12: Detalle de la zona donde el epitelio pigmentado se engruesa y pierde sus características típicas. (SM y FE, 40x)

Fig.13: Corte de una zona del injerto donde el epitelio pigmentado cubre la superficie externa del cristalino. Vemos que existe un pliegue de la retina. (SM, 10x)

Fig.14: Corte que confirma el pliegue de la retina y la continuación de la capa interna con la externa (flecha). (SM, 10x)

Fig.15: Corte donde vemos la transformación que sufre gran parte de la capa externa de la vesícula óptica. (SM, 10x)



EMBRION O-20

EMBRION: 0-20

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 13 Z, 26 pares de somitos) en región periocular del ojo derecho de un embrión de pollo (E: 17 HH).

Como el injerto es grande, sobre todo en relación al receptor, se introduce solamente la mitad de la vesícula óptica, quedando el resto fuera.

Se reincuba durante 4 días. Al abrir el huevo, el embrión esta vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 22 Z.

Estadio teórico del Receptor: 29-30 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 29 HH.

Del borde del globo ocular derecho del receptor surge un pedículo vascularizado rodeado de membranas, que une el embrión de pollo con un globo ocular que ha crecido aislado.

el injerto presenta un color oscuro y en uno de los polos hay un orificio pupilar a través del cual observamos el cristalino.

No se han diferenciado párpados, membrana nictitante ni existen evidencias del nervio óptico.

ESTUDIO MICROSCOPICO:

A partir del injerto se ha desarrollado un globo ocular, cuyo único nexo de unión con el receptor es un tejido mesodérmico vascularizado que ha desaparecido por el proceso

histológico. (figuras 1 y 2)

La mayor parte del globo ocular está rodeado por una fina capa de tejido mesodérmico vascularizado que a su vez está cubierto por una hilera de células ectodérmicas. (figuras 7 y 8)

En el segmento anterior del globo ocular se distingue una gruesa condensación de tejido ectomesodérmico. (figura 2)

En algunas zonas parece reconocerse cierta estratificación. Una capa externa que se continúa con el ectodermo lateral; otra interna muy delgada y entre ambas existe un espacio con menor densidad de células que se continúa periféricamente con el mesodermo. Esta estructura la identificamos como un esbozo corneal. (figuras 2 a 5)

Entre el cristalino, los bordes de la vesícula óptica y el esbozo corneal, existe una franja acelular y ópticamente vacía que corresponde a la cámara anterior. (figuras 2 a 5)

A partir de la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado el epitelio pigmentado, aunque presenta diferentes grados de desarrollo. (figura 2)

En los bordes de la vesícula óptica el epitelio pigmentado es mucho más grueso (figura 6) que en el resto, en donde también se observan diferencias. En unas zonas aparece más grueso y pigmentado (figura 7). Por el contrario, en otras parece perder el pigmento y se adelgaza de tal forma que a veces es difícil identificarlo. (figura 8)

A partir de la capa interna de la vesícula óptica se ha diferenciado la retina neurosensorial que en los bordes disminuye de grosor (retina ciega). (figuras 2 y 6)

Como ocurría con el epitelio pigmentado, la retina neurosensorial muestra diferencias entre unas zonas y otras. Donde es más gruesa, presenta mayor cantidad de células y se distinguen algunas capas. (figura 7)

Donde es más delgada, contiene menos células y en su espesor sólo podemos identificar con claridad una hilera de células en la superficie externa. Estas células pueden corresponder a los fotorreceptores. (figura 8)

El grado de diferenciación y desarrollo del epitelio pigmentado y de la retina neurosensorial en las diferentes zonas que acabamos de describir, parecen guardar una estrecha relación con el grosor del tejido mesodérmico que recubre cada una de esas zonas. (figuras 2, 7 y 8)

En algunos cortes histológicos existe una sustancia dentro del globo ocular del injerto que capta débilmente el colorante. (figuras 1 y 2)

No hemos encontrado indicios del nervio óptico ni del esbozo del pecten.

EMBRION 0-20

Fig.1: Corte horizontal oblicuo donde observamos que el injerto se ha desarrollado fuera del receptor (flecha). (HC, 1,5)

Fig.2: Corte que muestra como a partir del injerto se ha desarrollado un globo ocular. (HC, 4x)

Fig.3: Detalle del cristalino en el que destaca la diferenciación de todas sus estructuras. (HC, 20x)

Figs.4 y 5: Detalles del esbozo corneal que cubre el cristalino y los bordes de la vesícula óptica. Se puede delimitar la cámara anterior. (HC, 40x)

Fig.6: Corte que muestra el borde de la vesícula óptica, el esbozo de la córnea y el ecuador del cristalino. (HC, 20x)

Fig.7: Detalle de una zona del globo ocular donde vemos la diferenciación de la retina neurosensorial y del epitelio pigmentado. (HC, 40x)

Fig.8: Detalle (en la zona opuesta a la figura anterior) donde observamos que ambas capas tienen menor grado de desarrollo. (HC, 40x)

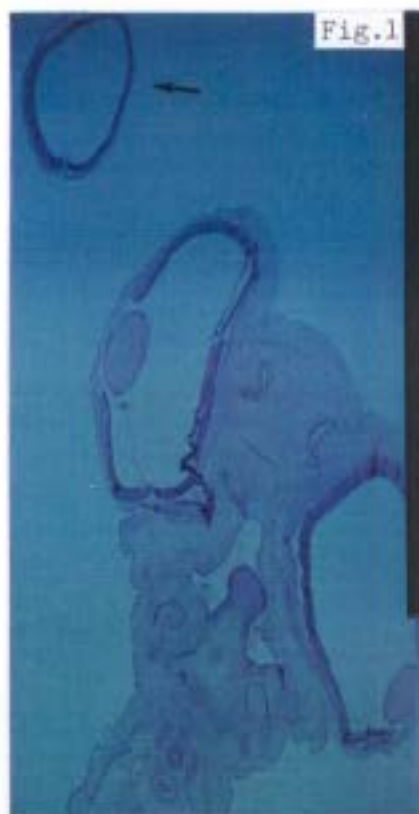


Fig.1



Fig.2

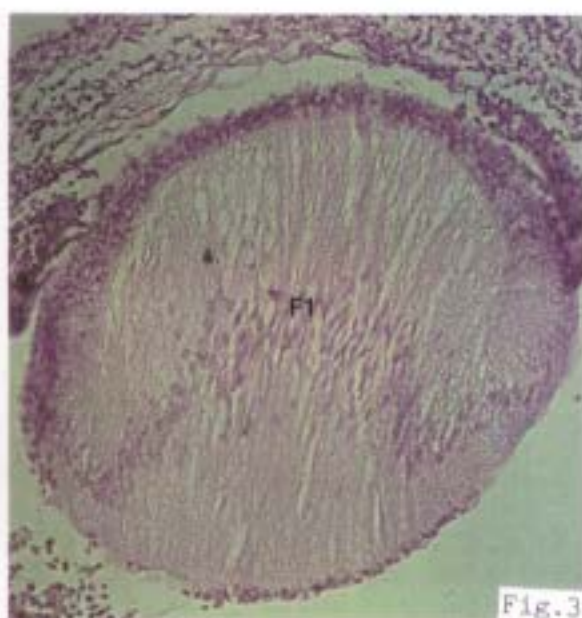


Fig.3

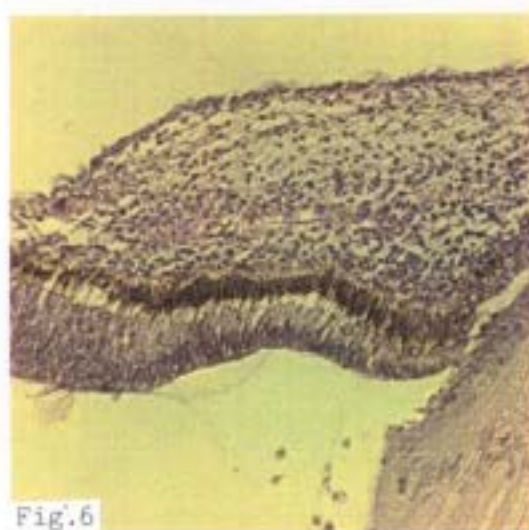


Fig.6

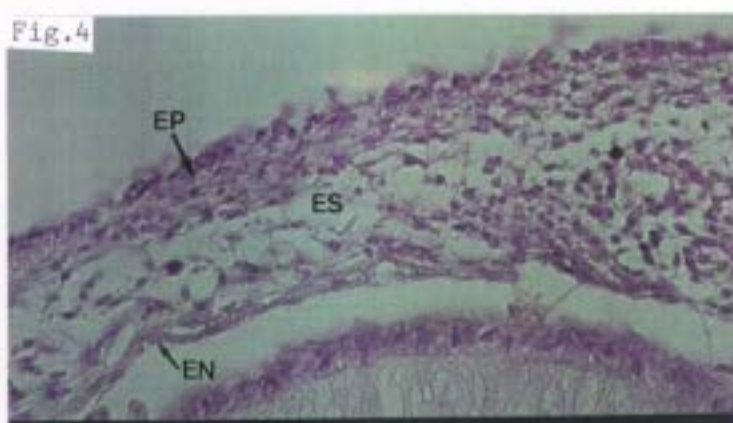


Fig.4

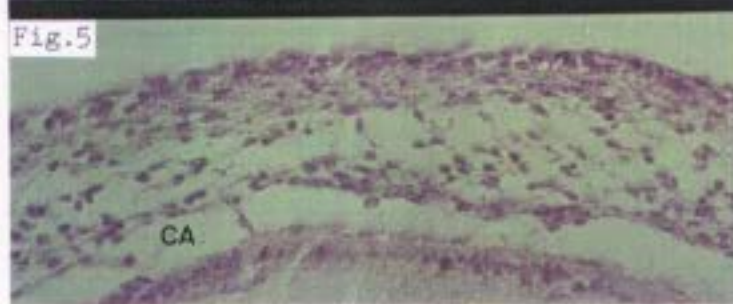


Fig.5

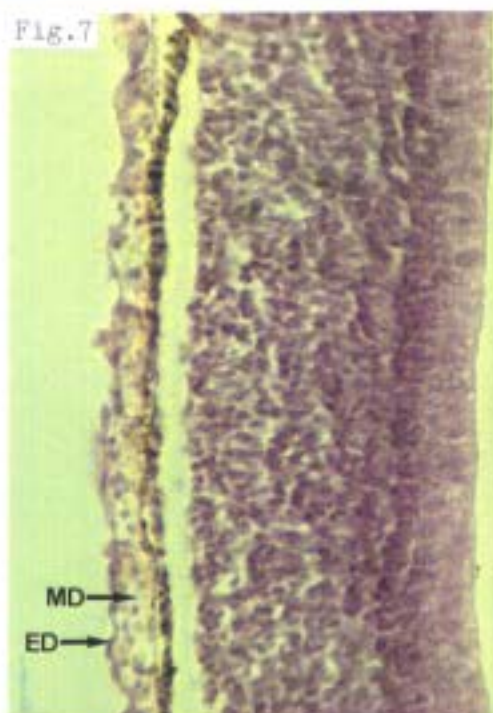


Fig.7

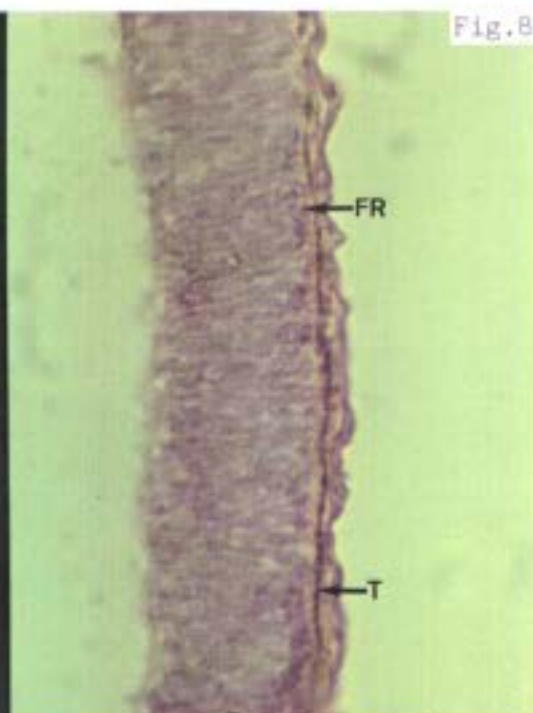


Fig.8

EMBRION O-15

EMBRION: O-15

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 13 Z, 24 pares de somitos), en región periocular del ojo derecho de un embrión de pollo (E: 20 HH).

Se reincuba durante 77 horas. Al abrir el huevo, el embrión esta vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 20 Z.

Estadio teórico del Receptor: 29-30 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 30 HH.

El injerto se ha desarrollado junto al borde dorsal del globo ocular derecho del receptor.

Se observa un pequeño anillo de pigmentación, mientras que a través de un orificio central, semejante a la pupila, existe una formación redondeada y blanca que puede corresponder al cristalino.

ESTUDIO MICROSCOPICO:

El injerto se ha desarrollado junto al globo ocular derecho del receptor. (figura 1)

Existe una ligera condensación del mesodermo que cubre parte de la retina del injerto. No se distinguen los nucleolos de estas células mesodérmicas. (figuras 2 y 8)

Cubriendo los bordes de la vesícula óptica y la zona de transformación del epitelio pigmentado en retina, existen algunas células de tejido mesodérmico en cuyos núcleos vemos

claramente los nucleolos. (figuras 3 a 5, 9 y 10)

El cristalino se ha desarrollado en el interior del globo ocular y está orientado hacia la superficie externa del embrión.

El epitelio pigmentado aumenta ligeramente de espesor en las regiones ecuatorial y preecuatorial. Los núcleos de las fibras cristalinianas se disponen en forma de "media luna". (figuras 2 y 3)

La estructura que cubre el segmento anterior del injerto presenta tres capas celulares en la zona central (figuras 4 a 6). Una externa con una o dos hileras de células cúbicas, otra interna con una sola hilera de células planas y entre ambas se encuentra una capa más gruesa en la que se aprecian células procedentes del tejido mesodérmico de la periferia.

La morfología que tiene esta estructura en la zona central, recuerda a la córnea durante la segunda oleada mesodérmica. (figuras 4, 5 y 6)

Sin embargo en la periferia, donde los bordes de la vesícula óptica están próximos entre sí, esta estructura recuerda más al recubrimiento ectomesodérmico del resto del embrión. (figura 3)

Tanto a nivel central como periférico, la córnea deriva del tejido ectomesodérmico del receptor.

Entre el cristalino, la córnea y los bordes de la vesícula óptica existe un espacio que corresponde a la cámara anterior. (figuras 2 a 6)

En el desarrollo del injerto destacan dos detalles interesantes. El primero es la ausencia del epitelio pigmentado en la mayor parte del injerto.

El epitelio pigmentado, sólo se ha diferenciado en los bordes de la vesícula óptica y en la zona del injerto que ha crecido junto al ojo derecho del receptor. (figuras 2 y 3)

En los bordes de la vesícula óptica, el epitelio pigmentado tiene un espesor parecido a la retina periférica y la mayor parte del pigmento se localiza en la superficie que está en contacto con la retina. (figura 3 a 5)

El epitelio pigmentado que se ha desarrollado junto al ojo derecho del receptor es delgado y está muy pigmentado.

Antes de desaparecer el epitelio pigmentado, vemos el segundo detalle importante de esta capa, ya que pierde el pigmento y se engruesa transformandose en una estructura que recuerda a la retina

Aunque en esta retina no se observa estratificación en capas, existe mayor densidad celular en la mitad externa, mientras que en la superficie interna hay zonas acelulares. (figuras 9 y 10)

La capa interna de la vesícula óptica se ha diferenciado en retina. En los bordes, esta capa disminuye de grosor siendo en algunas zonas similar al que presenta el epitelio pigmentado, por lo que a este nivel hablamos de retina ciega. (figuras 2 a 5)

En la retina neurosensorial podemos distinguir tres zonas en relación al grosor y grado de desarrollo.

La retina más gruesa es la que se ha desarrollado junto al epitelio pigmentado (figuras 2 y 9). La que se encuentra junto al mesodermo y no tiene epitelio pigmentado es más delgada aunque presenta un desarrollo similar a la otra (figuras 2 y 8). Por último, la retina que ha crecido junto al ectodermo superficial del embrión receptor muestra una escasa diferenciación y su grosor es muy inferior al que veíamos en las otras retinas. (figuras 2 y 7)

La retina neurosensorial desarrollada junto al epitelio pigmentado y al mesodermo, presenta una hilera de células alineadas en la superficie externa, que corresponden al esbozo de los fotorreceptores. En la superficie interna existe una fina capa acelular que relacionamos con las fibras ópticas. (figuras 8 y 9)

En algunas zonas del embrión existe una sustancia que capta de forma muy tenue el colorante y que podría corresponder al esbozo del cuerpo vítreo. (figura 2)

No hemos observado que exista nervio óptico ni esbozo del pecten.

EMBRION O-15

Fig.1: Corte horizontal oblicuo donde vemos el desarrollo y situación del injerto (flecha). (FE, 1,7x)

Fig.2: Corte que muestra el injerto, en el que se destaca la ausencia de gran parte del epitelio pigmentado (la flecha corresponde a las figuras 9 y 10). (FE, 4x)

Fig.3: Detalle del segmento anterior que incluye el cristalino, los bordes de la vesícula óptica y uniendo esos bordes una fina membrana de tejido mesodérmico. (FE, 20x)

Figs.4 y 5: Cortes donde observamos los extremos de la córnea y los bordes de la vesícula óptica. (FE, 20x)

Fig.6: Detalle de la córnea donde vemos las tres capas, epitelio, estroma y endotelio. (FE, 40x)

Fig.7: Detalle de la retina neurosensorial que ha crecido junto al ectodermo superficial. (FE, 40x)

Fig.8: Detalle de la retina neurosensorial que crecido junto al mesodermo. (FE, 40x)

Fig.9: Corte que muestra el punto donde el epitelio pigmentado se transforma en retina (flecha). (FE, 20x)

Fig.10: Detalle de la transformación del epitelio pigmentado en retina. Distinguimos los nucleolos de las células mesodérmicas que cubren esta región del injerto. (FE, 40x)

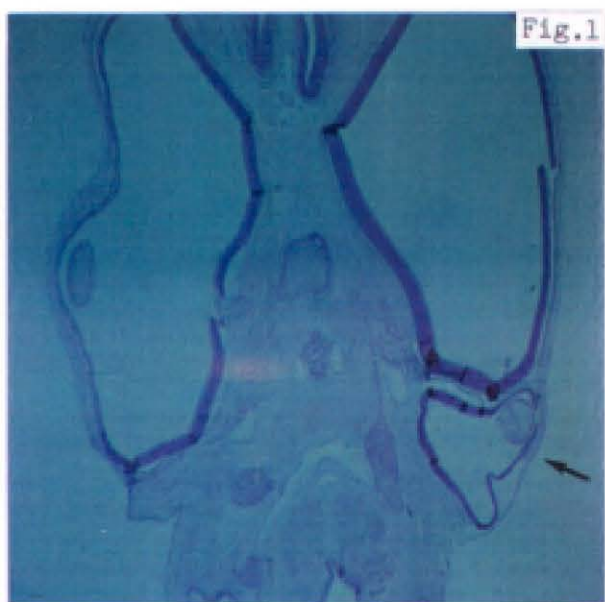


Fig.1

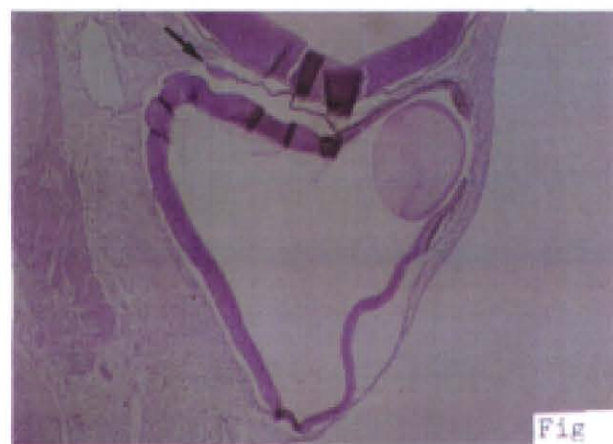


Fig.

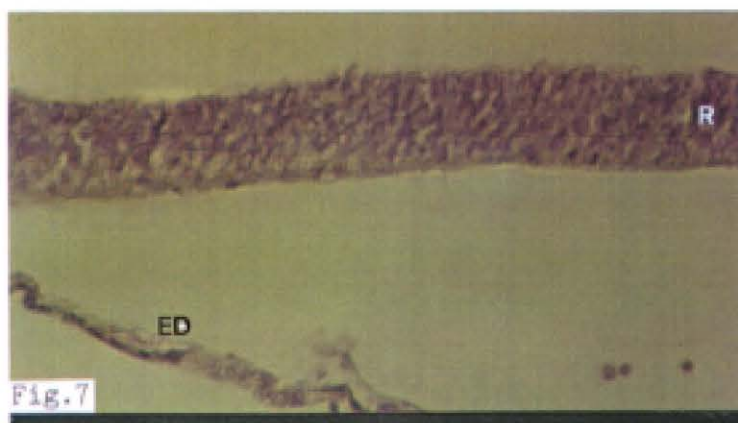


Fig.7

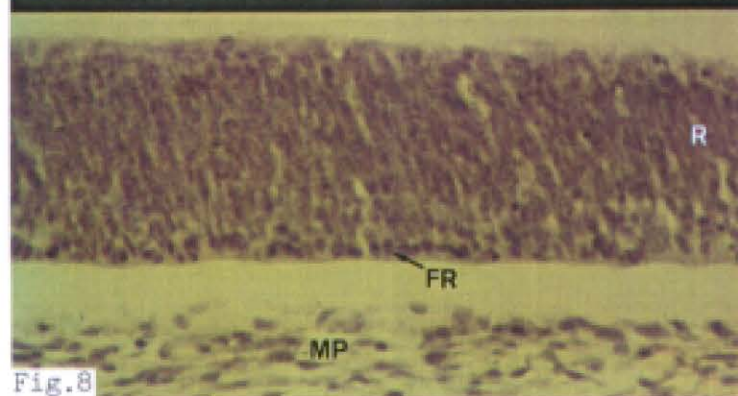


Fig.8

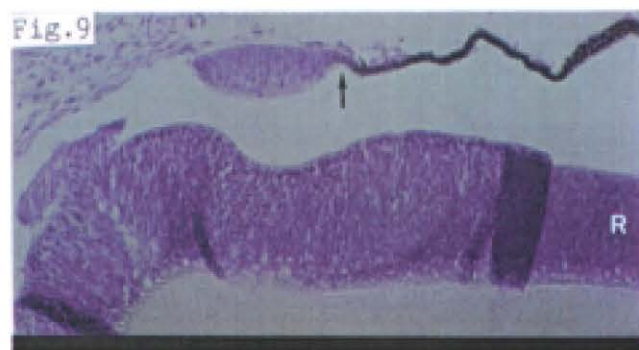


Fig.9



Fig.10



Fig.3

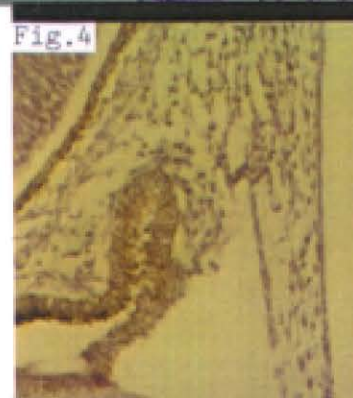
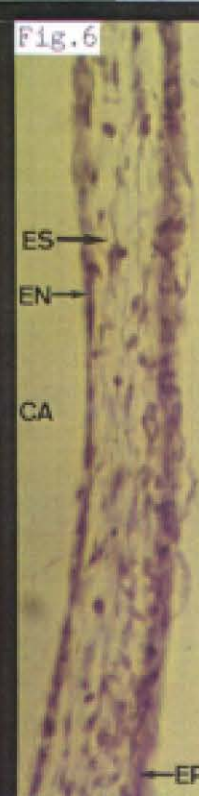


Fig.5



ES
EN

CA

EP

EMBRION O-146

Fig.1



EMBRION O-146

Fig.1: Visión lateral derecha donde solamente se reconocen el globo ocular derecho del receptor (flecha) y del injerto. (1,8x)

EMBRION: O-146

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 11 Z, 19 pares de somitos), en región periocular dorsal de la vesícula óptica derecha de un embrión de pollo (E: 12 HH).

Se reincuba durante 4 días. Al abrir el huevo, el embrión está muerto y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 21 Z.

Estadio teórico del Receptor: 28-29 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está deformado y presenta alteraciones por lo que es difícil asignarle un estadio final; aunque podría corresponder al 26 o 27 HH, por la forma del miembro superior.

En el lado derecho de la región cefálica observamos que hay dos estructuras pigmentadas. La más grande corresponde al globo ocular del embrión receptor y en él podemos identificar la fisura óptica, y a través del orificio pupilar el cristalino. En la más pequeña que corresponde al injerto sólo se distingue la pigmentación que es similar a la del receptor.

En el lado izquierdo sólo se observa un globo ocular de características similares al ojo derecho del receptor. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

La mayor parte del injerto se ha desarrollado fuera del receptor y sólo en algunas zonas el contacto es mayor. (figuras 2 y 6)

Existe una ligera condensación del mesodermo que rodea el globo ocular del injerto. (figuras 2 a 4)

El cristalino y los bordes de la vesícula óptica están cubiertos por la córnea que presenta dos capas celulares separadas por un espacio acelular, aunque no ópticamente vacío, que corresponde al estrato acelular de la córnea.

La capa externa es gruesa, presenta una o dos hileras de células cúbicas y periféricamente se continúa con el ectodermo superficial. Esta capa corresponde al esbozo del epitelio corneal.

La capa interna está formada por una sola hilera de células planas que se continúan en la periferia con el mesodermo que rodea los bordes de la vesícula óptica. Esta capa corresponde al esbozo del endotelio corneal. (figuras 3 a 5)

El cristalino está bien orientado. El epitelio anterior es más grueso en las regiones ecuatorial y preecuatorial que en la zona central. (figura 4)

Los núcleos de las fibras cristalinianas comienzan a adoptar la disposición de "media luna", sobre todo en cortes periféricos del cristalino. (figuras 3 y 4)

Entre la córnea, el cristalino y los bordes de la vesícula óptica con el mesodermo que lo rodea, se forma un espacio acelular y ópticamente vacío que corresponde al esbozo

de la cámara anterior. (figuras 4 y 5)

A partir de la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado el epitelio pigmentado. Observando esta estructura, vemos que en los bordes aumenta de grosor mientras que la pigmentación se hace más tenue. (figuras 3, 4 y 8)

En algunas zonas del epitelio pigmentado que recubre la retina neurosensorial es difícil identificar el pigmento. (figura 7)

En la periferia del injerto vemos que el epitelio pigmentado se engruesa, pierde el pigmento y se transforma en una retina neurosensorial que aparece parcialmente cubierta por mesodermo. (figura 6)

Existen zonas donde la retina neurosensorial no está cubierta por el epitelio pigmentado. (figura 6)

A partir de la capa interna de la vesícula óptica se ha diferenciado la retina. Esta retina es más delgada en los bordes de la vesícula óptica.

En la retina neurosensorial no observamos estratificación en capas. (figuras 3, 4, 6 y 7)

El epitelio pigmentado acompaña los pliegues sencillos de la retina neurosensorial. Sin embargo, hemos encontrado una formación quística en la retina que se relaciona con el epitelio pigmentado transformado en retina neurosensorial. (figura 6)

En aquellas zonas donde la retina neurosensorial no está rodeada por el epitelio pigmentado, esta disminuye considerablemente su grosor. (figura 6)

No hemos observado ninguna estructura que pueda corresponder al esbozo del pecten.

Fig.2: Corte tangencial donde vemos la relación del injerto con el receptor. (HC, 2,8x)

Figs.3 y 4: Cortes a diferentes niveles que muestran el grado de desarrollo de las diferentes estructuras del injerto. (HC, 10x)

Fig.5: Detalle de la córnea y del epitelio anterior del cristalino. (HC, 40x)

Fig.6: Corte periférico del injerto donde vemos que el epitelio pigmentado se transforma en retina neurosensorial. También se observa una formación quística en la retina neurosensorial (flecha). (HC, 10x)

Fig.7: Detalle de una zona del injerto donde no vemos claramente la pigmentación de la capa externa. (HC, 40x)

Fig.8: Detalle del borde de la vesícula óptica y del cristalino. (HC, 40x)

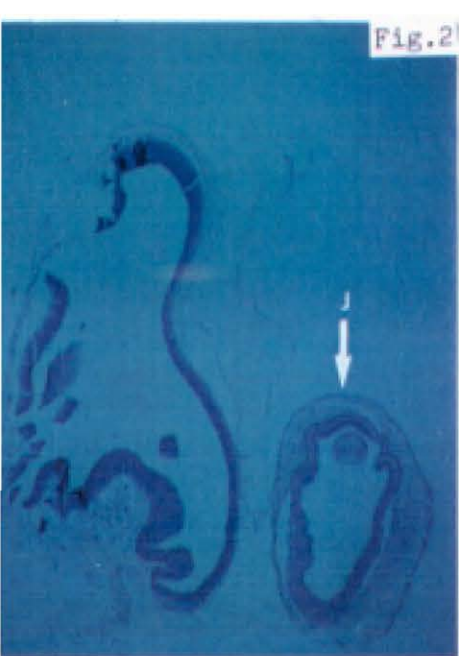


Fig. 2



Fig. 3



Fig. 4



Fig. 6

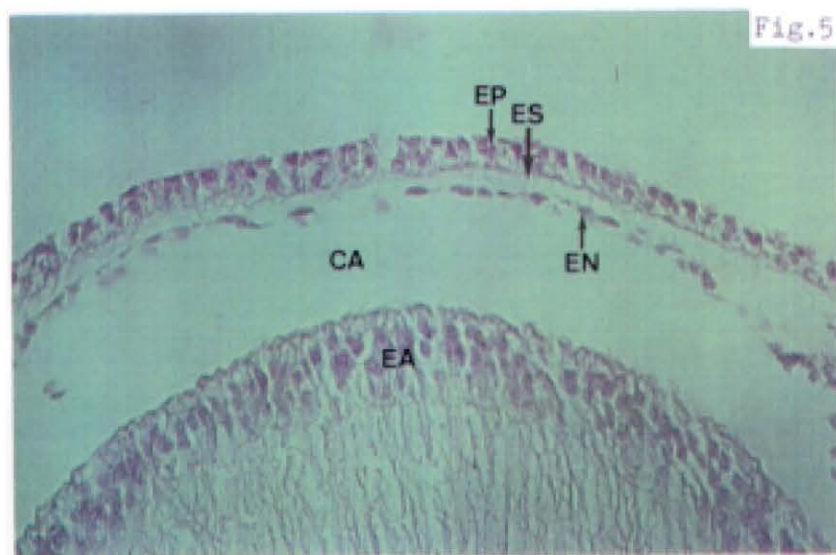


Fig. 5

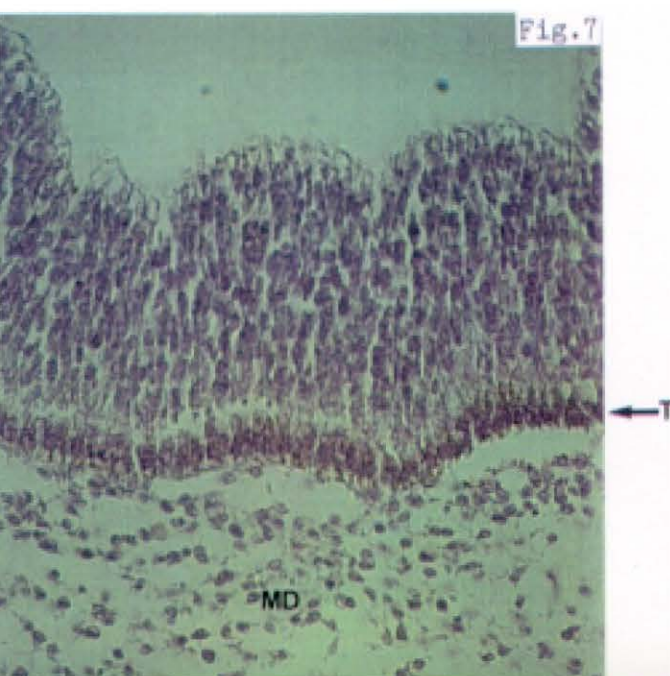


Fig. 7



Fig. 8

EMBRION O-150

EMBRION: 0-150

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 11 Z, 19 pares de somitos), en región periocular de la vesícula óptica derecha de un embrión de pollo (E: 13 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 36 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 44 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente desarrollado y ha alcanzado un estadio 43+ HH.

En el lado derecho de la cabeza se han desarrollado esbozos pigmentados de plumas que cubren la parte superior y dorsal del ojo.

Sólo se ha desarrollado la parte más rostral del párpado superior. Su borde libre y los esbozos de plumas que lo cubren están pigmentados.

El párpado inferior presenta una intensa pigmentación en el tercio dorsal del borde libre. Esa zona está cubierta por esbozos pigmentados de plumas.

Al faltar gran parte del párpado superior, el extremo posterior de la hendidura palpebral presenta numerosas alteraciones. A ese nivel, sobre la córnea, ha crecido una estructura de color blanco y consistencia dura.

La mitad superior de la córnea está cubierta por una formación blanquecina.

Los esbozos pigmentados de plumas no sólo están presentes sobre el globo ocular derecho, sino que también cubren la región de la cabeza que está detrás del ojo derecho.

Aunque parte de los párpados no se han desarrollado, no observamos la presencia de la membrana nictitante.

En el lado izquierdo de la cabeza, los párpados del ojo izquierdo están cerrados y no se observan esbozos pigmentados de plumas. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Lo primero que llama la atención es la ausencia, en el ojo derecho, de gran parte del párpado superior. Esto indica que parte del globo ocular no está protegido por el párpado y una zona de su pared sólo está formada por cartílago escleral.

En primer lugar vemos una estructura que ha crecido, haciendo protusión, sobre la pared del globo ocular y que se extiende desde la periferia de la córnea (figura 5) hasta el inicio de la esclera; incluso en algunas zonas crece sobre ella. (figuras 3 y 4)

Tanto por la morfología interna como por el color que capta con esta tinción, corresponde a tejido nervioso. (figuras 4 y 5)

En otras zonas observamos que también se ha desarrollado una estructura ovalada en cuyo interior existen fibras que recuerdan a las fibras cristalínianas y que parecen dirigirse hacia la zona central, fuertemente teñida.

Está rodeado en parte por una capa que recuerda al epitelio pigmentado. (figuras 6 y 7)

Entre el esbozo del cristalino y la superficie externa, aparece una estructura que presenta dos capas separadas por una línea nítida que capta con más intensidad el colorante.

En su capa superficial (epitelio) vemos que la mitad externa la integran células que captan con intensidad el colorante y se descaman. Por el contrario, la mitad interna contiene células que se distribuyen homogéneamente.

La capa subyacente (estroma) es muy gruesa y en su interior existen fibras que se disponen paralelas entre sí y con relación a la superficie externa.

La superficie interna (endotelio) está constituida por una franja de tonalidad más oscura. (figuras 6 y 7)

Finalmente hemos comprobado que se ha desarrollado una estructura histológicamente muy similar al pico de las aves y que corresponde a la estructura dura y blanquecina de la observación macroscópica. (figura 8)

EMBRIÓN 0-150

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza donde se observa la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (1x)

Fig.2: Detalle donde vemos las alteraciones morfológicas de los párpados y algunas estructuras que se han desarrollado a partir del injerto. (2x)

Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra parte del injerto sobre la pared del globo ocular derecho (flecha). (BB, 0,66x)

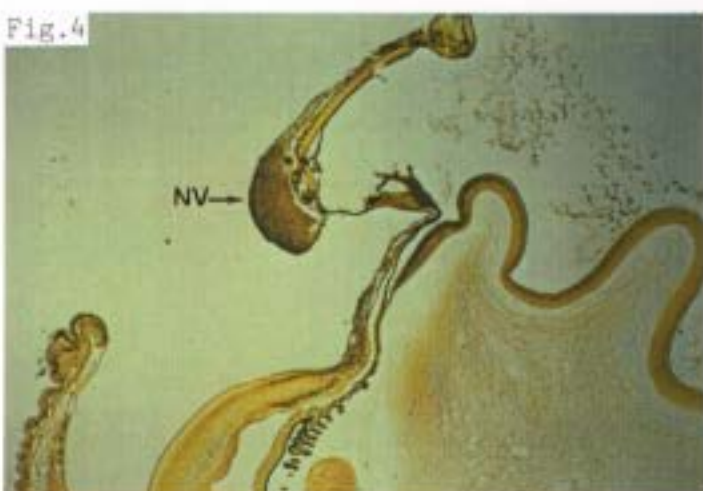
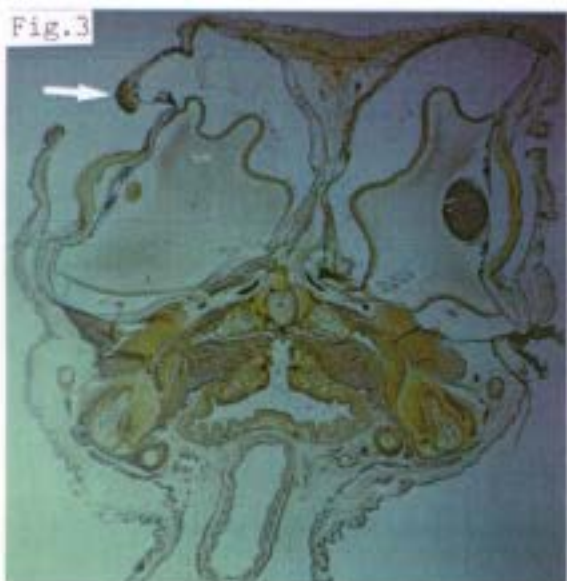
Fig.4: Detalle donde vemos la estructura con aspecto de tejido nervioso que ha crecido sobre la esclera. (BB, 2x)

Fig.5: Detalle de la misma estructura pero a otro nivel. Se ha desarrollado cerca de la periferia corneal. (BB, 4x)

Fig.6: Corte donde vemos que en la pared del globo ocular existe una estructura similar a un cristalino. (BB, 2x)

Fig.7: Detalle de la figura anterior. Vemos fibras cristalinianas cubiertas en su cara interna por una capa pigmentada. Por encima de ella se delimita una estructura que corresponde al esbozo de la córnea. (BB, 20x)

Fig.8: Detalle de la estructura que macroscópicamente veíamos de color blanco y consistencia dura y cuyo aspecto histológico corresponde al de los picos de las aves. (BB, 20x)



EMBRION O-106

EMBRION: 0-106

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 12 Z, 22 pares de somitos), en región periocular dorsal de la vesícula óptica derecha de un embrión de pollo (E: 13+ HH).

Se reincuba durante 12 días y 17 horas. Al abrir el huevo, el embrión está vivo pero cae al suelo. Se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 31-32 Z.

Estadio teórico del Receptor: 40-41 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión, que presenta varias malformaciones en la cabeza, ha alcanzado un estadio 39+ HH.

En la parte izquierda de la cabeza existe una anoftalmia, por lo que el pico superior, además de estar desviado a la izquierda, es más corto que el inferior.

En el lado derecho observamos algunas estructuras que no pertenecen al receptor.

El tercio medio del párpado superior no se ha desarrollado. El borde de la zona rostral está pigmentado, mientras que el del tercio dorsal se confunde con la formación negra que existe a ese nivel.

El párpado inferior parece estar más abierto de lo normal.

En el ángulo anterior observamos que la membrana nictitante cubre el borde rostral de la córnea.

El ojo derecho está rotado por lo que mira hacia abajo.

Los esbozos pigmentados de plumas cubren la parte del párpado superior que se ha desarrollado y la piel vecina.

Junto al extremo cráneo-dorsal de la córnea y antes de caer al suelo existía una formación esférica y de color negro. Tras la caída observamos una estructura negra e irregular y otra blanquecina que la separa de la córnea.

El borde dorsal de la estructura negra parece estar unida al borde del párpado inferior en el ángulo dorsal. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Hemos observado que en la zona izquierda no existe ningún esbozo del globo ocular izquierdo por lo que confirmamos la anoftalmía izquierda.

El injerto ha crecido junto al globo ocular del receptor en el tramo de la pared que se extiende entre la periferia de la córnea y el final de la esclera. (figuras 2 a 4)

A partir del injerto se han desarrollado dos estructuras que, aunque unidas, están perfectamente delimitadas.

La estructura de aspecto compacto que ha crecido junto a la córnea tiene gran parecido con el tejido nervioso pues su morfología y la intensidad con la que capta el colorante son similares.

La otra estructura presenta una cavidad en cuyo interior existe una sustancia que se tiñe levemente. Si comparamos su aspecto con el vítreo del globo ocular del receptor vemos una cierta semejanza. (figuras 3 a 5)

La pared de esta estructura es irregular, tiene pliegues y su grosor es muy variable. (figuras 3 y 4)

El aspecto que tiene la pared de esta estructura es similar al que presenta una retina poco o mal diferenciada. (figura 5)

Existe un acúmulo ("ovillo") de pigmento que, anclado en la pared del globo ocular, une a éste con las otras dos estructuras, la compacta y la irregular. (figuras 3 y 4)

EMBRION O-106

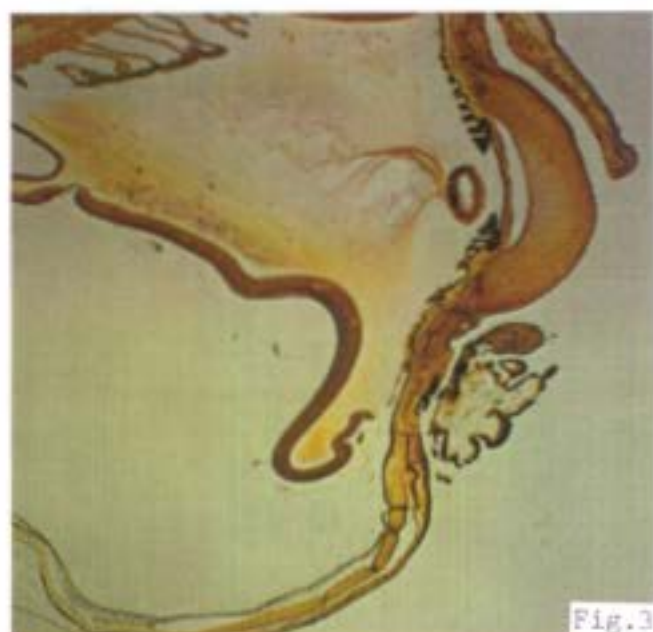
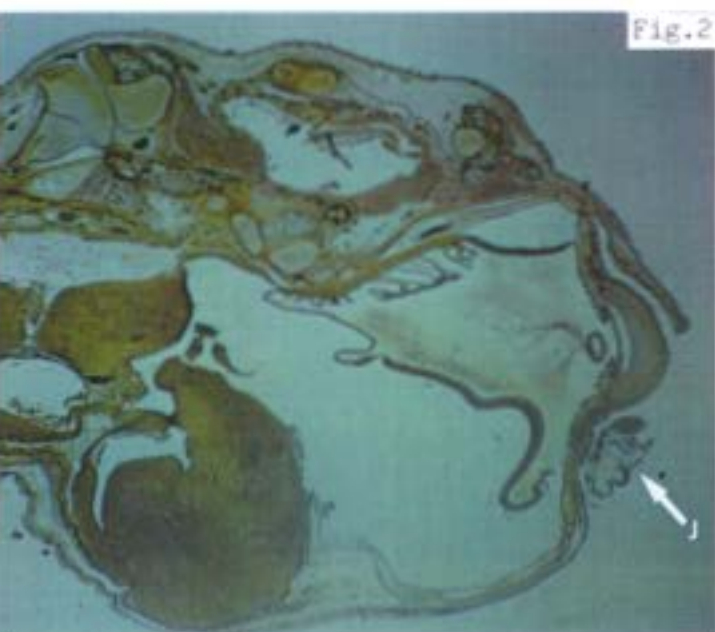
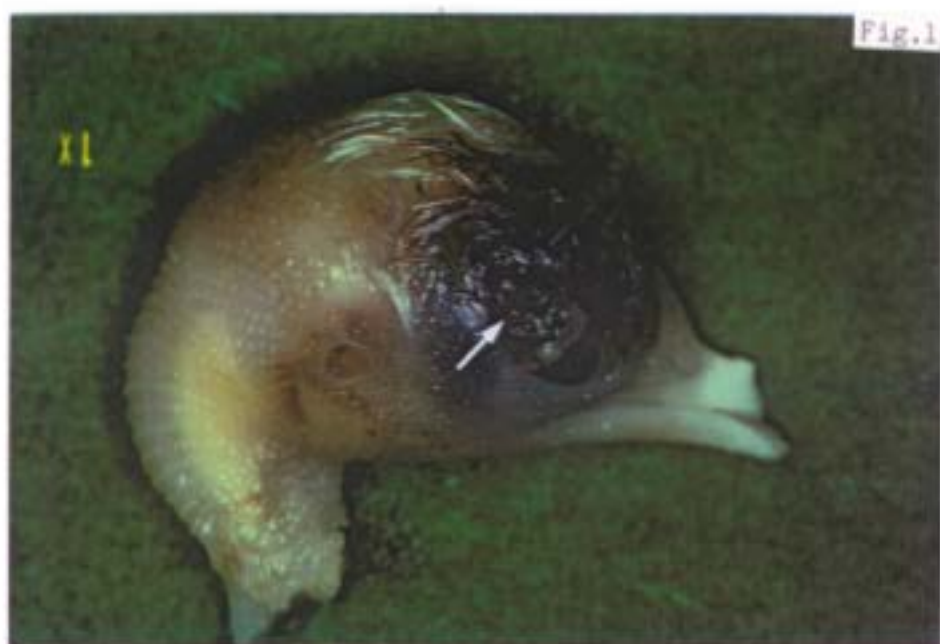
Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza parcialmente desplumada. Observamos que el pico superior es más corto que el inferior. Vemos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas y las alteraciones de los párpados. Dorsal y craneal a la córnea aparece una estructura muy pigmentada (flecha) y otra blanquecina. (1x)

Fig.2: Corte frontal oblicuo donde vemos la situación del injerto con relación al globo ocular derecho del receptor. (BB, 1,2x)

Fig.3: Corte que muestra un acúmulo de pigmento en la base del injerto y en la superficie del globo ocular. (BB, 2x)

Fig.4: Detalle de las estructuras que se han desarrollado a partir del injerto. (BB, 4x)

Fig.5: Detalle de la pared ; el aspecto es similar al que presenta una retina poco o mal desarrollada. (BB, 20x)



EMBRION O-213

EMBRION: O-213

Injerto de vesícula óptica derecha (con parte del diencéfalo y de tejido ectomesodérmico) de un embrión de codorniz (E: 8 Z, 10 pares de somitos), en el neuroporo anterior de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 15 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 6 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 42-43 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

A excepción de la cabeza, el embrión se ha desarrollado normalmente y ha alcanzado un estadio 41 HH. (figura 3)

En la superficie craneal de la cabeza, observamos varias estructuras nerviosas, un globo ocular y partes de un pico.

Los esbozos pigmentados de plumas rodean las estructuras encefálicas, sobre todo en los bordes dorsal, lateral derecho y rostral. También cubren parcialmente el globo ocular del injerto y el borde del párpado superior del ojo derecho, continuandose dorsalmente. La piel del borde palpebral superior del ojo derecho presenta una pigmentación negra evidente. (figuras 1 y 2)

En el ojo izquierdo no existen signos de pigmentación ni en la piel, ni en los esbozos de plumas.

Lo primero que llama la atención es que en la parte superior derecha de la cabeza, sobre el ojo derecho del receptor se ha desarrollado un globo ocular que parece haber alcanzado una aceptable diferenciación.

Los párpados de este ojo están parcialmente cubiertos por esbozos pigmentados de plumas y sus bordes aparecen también pigmentados. La hendidura palpebral (orientada en sentido antero-posterior con relación al receptor) está abierta, lo que nos permite ver como la membrana nictitante parte del ángulo anterior y cubre parcialmente la córnea. (figura 2)

Del borde anterior del ojo del injerto se ha desarrollado un pico superior pigmentado. En su base presenta el orificio de entrada a las fosas nasales y en el extremo distinguimos el diamante.

En el borde dorsal del ojo del injerto aparece una estructura que corresponde al pico inferior, pues es más estrecha, no está pigmentada y carece de diamante. (figuras 1 y 2)

Existen varias estructuras nerviosas que se han desarrollado fuera de la cavidad craneal. La mayoría están entre el ojo del injerto y el ojo izquierdo del receptor, pero hay otra que se encuentra en la parte posterior y lateral derecha del ojo del injerto. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

La piel de los párpados que recubre al ojo del injerto es irregular por la presencia de los esbozos de las plumas. El borde libre y la superficie interna son lisos y están tapizados por tejido conjuntivo.

La membrana nictitante, anclada en el fondo de saco conjuntival inferior (izquierdo), presenta una morfología normal. (figuras 6 y 7)

El cartílago escleral rodea el globo ocular del injerto, excepto en la zona de salida del nervio óptico (donde forma un anillo más grueso) y a nivel del segmento anterior. Pero no presenta el mismo grado de desarrollo en todas las regiones. Mientras que la mayor parte del cartílago escleral se ha desarrollado normalmente, en las zonas donde ha crecido junto al ojo derecho del receptor observamos que su calibre es menor y está menos diferenciado. (figuras 4 y 6)

Sólo hemos encontrado fascículos de algún músculo ocular extrínseco en aquellas zonas del injerto que están junto al globo ocular derecho del receptor. (figura 6)

En el epitelio corneal vemos como las células queratinizadas superficiales captan con intensidad el colorante y se descaman. Por el contrario la capa basal con células cúbicas, presenta una morfología uniforme.

Entre el epitelio y el estroma corneal existe una línea que capta con fuerza el colorante. Esta línea puede corresponder a la membrana de Bowman.

El estroma corneal tiene un aspecto homogéneo, aunque presenta una banda central más clara. En la periferia del estroma se encuentra el sistema de drenaje del humor acuoso.

Aunque el límite entre el estroma y el endotelio corneal es evidente, no hemos observado ninguna estructura que corresponda a la membrana de Descemet.

El endotelio corneal es la capa más fina y está formada por una hilera de células planas. (figuras 6 a 8)

El cristalino ha alcanzado un buen grado de desarrollo. El epitelio anterior está orientado hacia la superficie del ojo y se engruesa en las regiones ecuatorial y preecuatorial.

Las fibras cristalinianas presentan un aspecto uniforme y homogéneo, pero no podemos identificar los límites entre fibras primarias y secundarias. (figuras 6 y 7)

En el iris se distinguen perfectamente el estroma y el epitelio pigmentado, pero como ocurre con los embriones control, no vemos la *pars iridae retinae*.

Por el contrario, en los procesos ciliares se observan perfectamente todas sus capas, el estroma, el epitelio pigmentado y la *pars ciliaris retinae*. (figura 7)

Entre el cristalino, la córnea y el iris se delimita la cámara anterior. Lateralmente el límite es el ángulo irido-corneal que está tapizado por tejido mesodérmico. (figuras 6 y 7)

La coroides aparece como una capa vascularizada que se sitúa entre el cartílago escleral y el epitelio pigmentado. (figuras 6, 10 y 12 a 14)

El epitelio pigmentado se ha desarrollado desde el borde del iris hasta la zona de salida del nervio óptico. Es más grueso cuando recubre a la retina ciega (*pars plana*) y cuando forma parte de la pared de los procesos ciliares y del iris. El cambio de espesor tiene lugar a nivel de la *pars terminalis retinae*. (figuras 6, 7, 10 y 12 a 14)

Si exceptuamos la zona de salida del nervio óptico, la mayor parte de la retina neurosensorial está separada del epitelio pigmentado. Por el contrario toda la retina ciega

está unida a él. Este detalle lo observamos claramente en la *pars terminalis retinae*. (figuras 4, 6 y 10)

La retina neurosensorial presenta un desarrollo normal y en su espesor podemos identificar todas sus capas.

Vemos que la capa de fibras ópticas aumenta de espesor según nos acercamos a la salida del nervio óptico.

En las zonas donde la retina neurosensorial está separada del epitelio pigmentado observamos claramente los artículos externos de los fotorreceptores. (figuras 6, 7, 9 y 10)

En el interior del globo ocular del injerto vemos la presencia del cuerpo vítreo. (figuras 4 y 6)

Haciendo relieve en la cavidad vítrea se ha desarrollado el pecten con un número escaso de pliegues que no superan los diez.

En el interior de los pliegues observamos gran cantidad de pigmento y vasos sanguíneos.

En los pliegues basales, el corte histológico afecta longitudinalmente a los vasos sanguíneos por lo que parecen menos pigmentados. Por el contrario en los pliegues más internos, al estar los vasos cortados transversalmente, parece que contienen mayor cantidad de pigmento.

El borde libre es la parte más gruesa del pecten. (figuras 4, 6, 11 y 12)

Al estudiar anteriormente algunas estructuras ya hemos mencionado que se ha desarrollado un nervio óptico. (figuras 12 a 14)

En los cortes transversales del nervio óptico vemos que las fibras ópticas están protegidas por una envoltura de tejido conjuntivo. (figuras 13, 14 y 19)

El nervio óptico se dirige dorsalmente y en un momento dado cambia de trayecto, se dirige a la derecha y entra en contacto con la estructura nerviosa situada dorsal y lateral derecha en relación al ojo del injerto (figuras 4, 5 y 12 a 15). Finalmente sus fibras se pierden en el espesor de esta estructura nerviosa. (figuras 15 a 18)

No podemos asegurar si el tejido nervioso al que se dirige y une al nervio óptico pertenece al receptor o se ha desarrollado a partir del injerto.

EMBRION 0-213

Fig.1: Visión craneal y lateral derecha donde vemos que se ha desarrollado un globo ocular con párpados y esbozos de plumas. Dorsal y rostral al ojo se observan partes de un pico. Existen varias estructuras nerviosas que se encuentran fuera de la cavidad craneal. (1x)

Fig.2: Visión craneal. En el globo ocular del injerto vemos que el borde de los párpados esta pigmentado. A través de la hendidura palpebral abierta se observa la membrana nictitante. (1x)

Fig.3: Visión lateral derecha de todo el embrión que muestra el grado de desarrollo y la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (0,25x)

Fig.4: Corte frontal. Observamos la situación del globo ocular del injerto y la salida del nervio óptico (flecha). (BB, 0,75x)

Fig.5: Corte más dorsal donde vemos la unión del nervio óptico con la estructura nerviosa que está junto al ojo derecho del receptor (flechas). (BB, 0,75x)

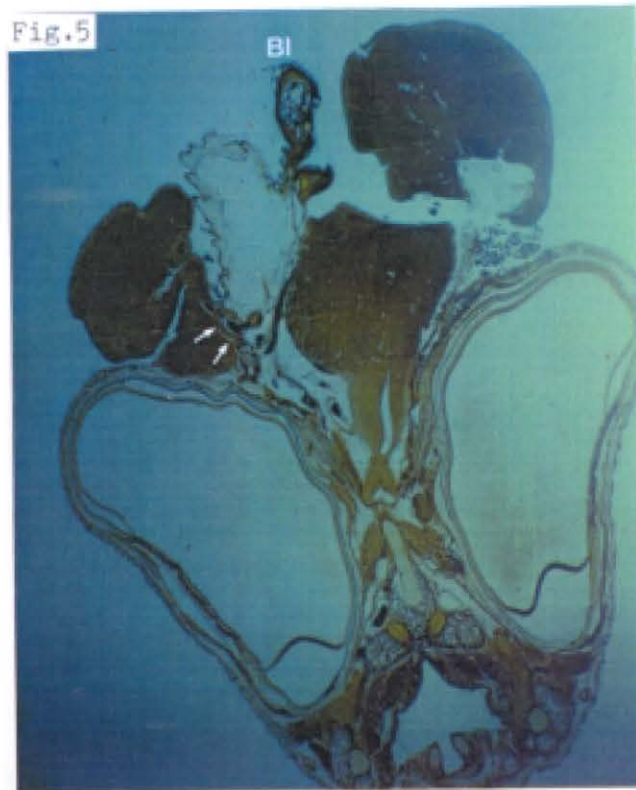
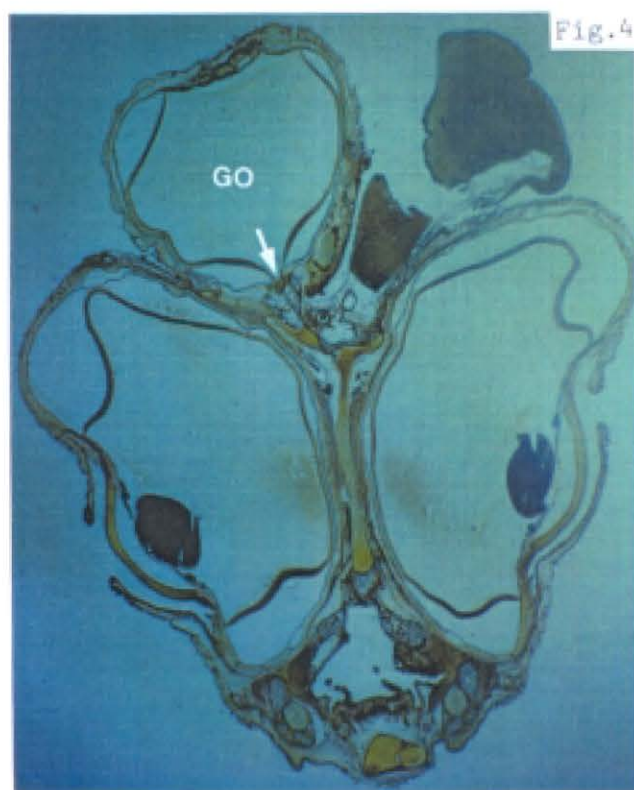


Fig.6: Corte que muestra el globo ocular que se ha desarrollado a partir del injerto. Destacamos la presencia del pecten. (BB, 2x)

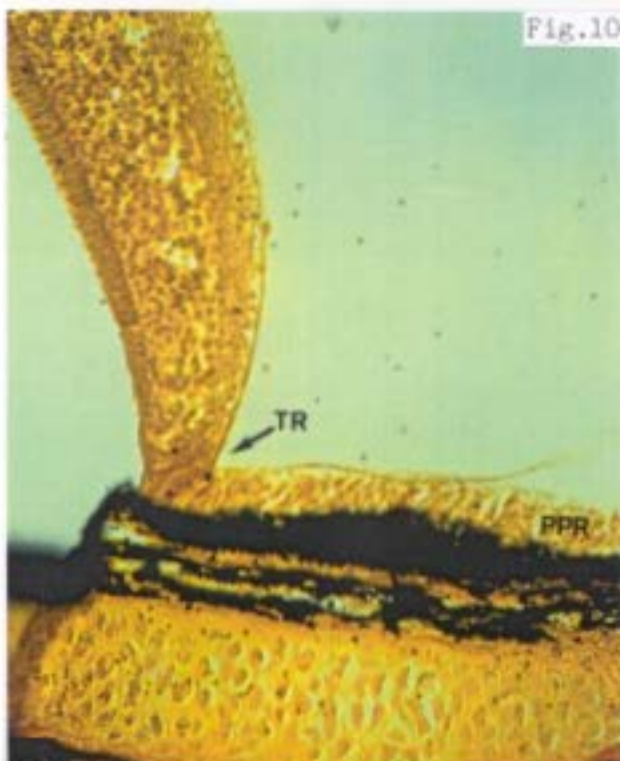
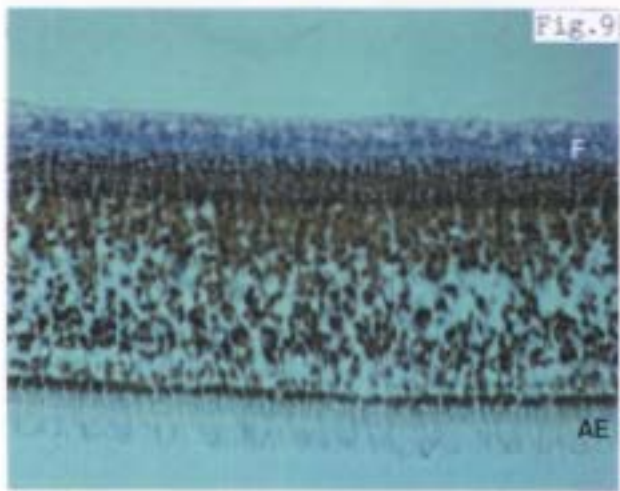
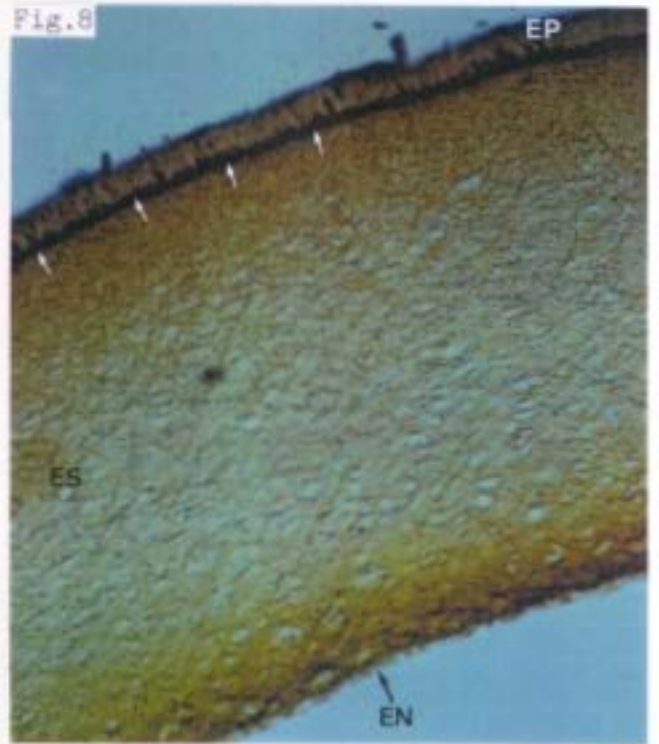
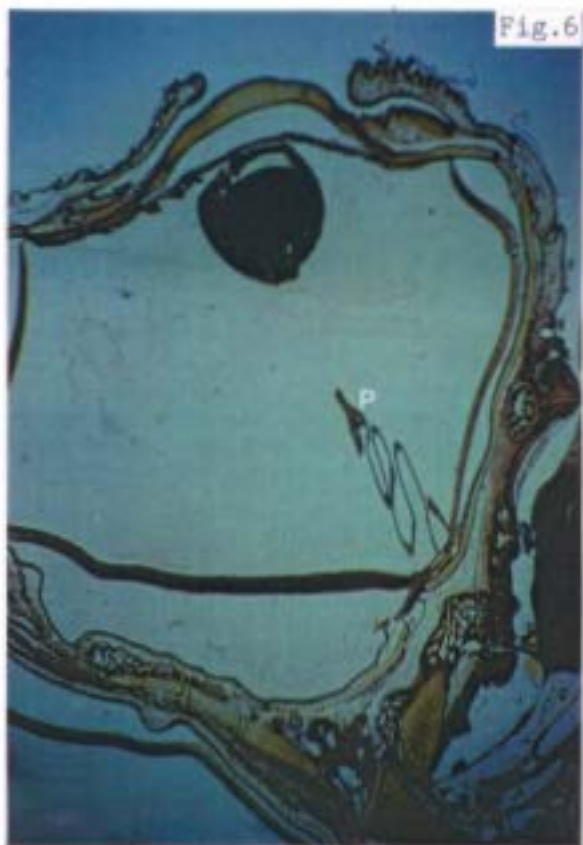
Fig.7: Detalle del segmento anterior donde vemos la cámara anterior delimitada por la córnea, el iris y el cristalino. (BB, 4x)

Fig.8: Detalle de la córnea. Observamos que las células queratinizadas del epitelio se descaman. Entre epitelio y estroma se encuentra la membrana de Bowman (flechas). (BB, 40x)

Fig.9: Detalle de la retina neurosensorial donde vemos perfectamente todas las capas. Al estar separada del epitelio pigmentado, distinguimos con nitidez los artículos externos de los fotorreceptores. (BBV, 40x)

Fig.10: Detalle de la *pars terminalis retinae*. A ese nivel la retina neurosensorial se separa del epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Fig.11: Corte del pecten donde se observa que en el interior de sus pliegues existe gran cantidad de pigmento y vasos sanguíneos (flechas). (BB, 10x)



Figs.12, 13 y 14: Cortes seriados de la salida y recorrido del nervio óptico (flechas). (BB, 4x)

Figs.15, 16, 17 y 18: Cortes que muestran la unión del nervio óptico con la estructura nerviosa. Vemos que las fibras nerviosas se pierden en su espesor. (BB, 4x y 10x)

Fig.19: Sección transversal del nervio óptico donde se observa la envoltura de tejido conjuntivo que protege las fibras ópticas. (BB, 40x)

Fig.12



Fig.13



Fig.14

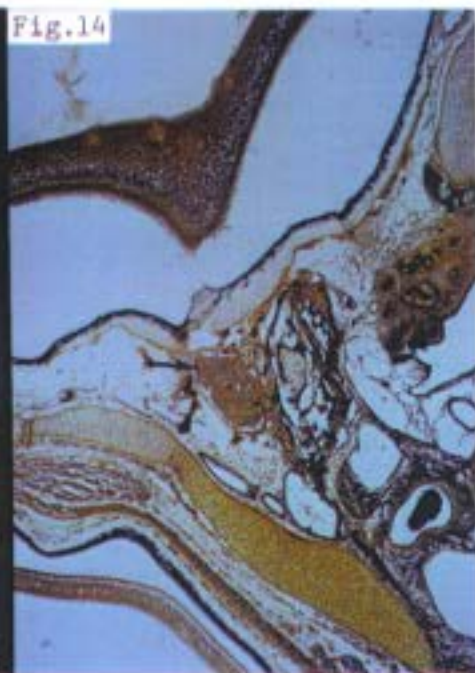


Fig.16



Fig.15

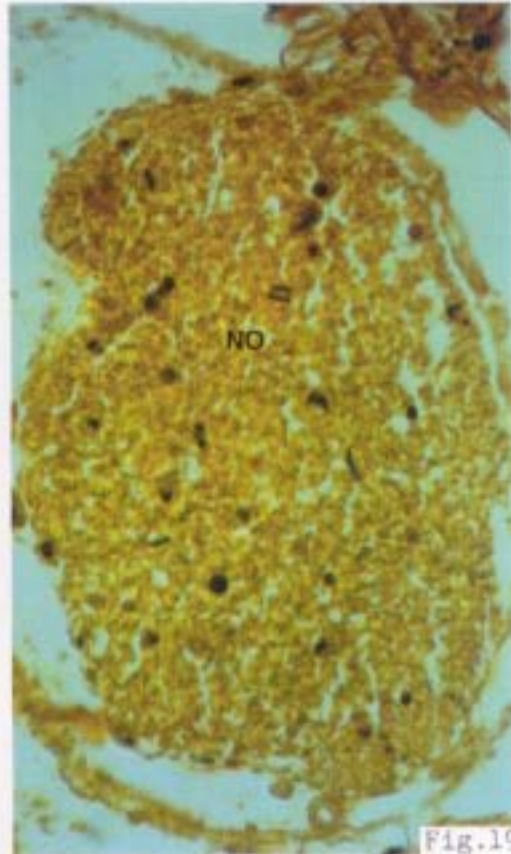


Fig.19

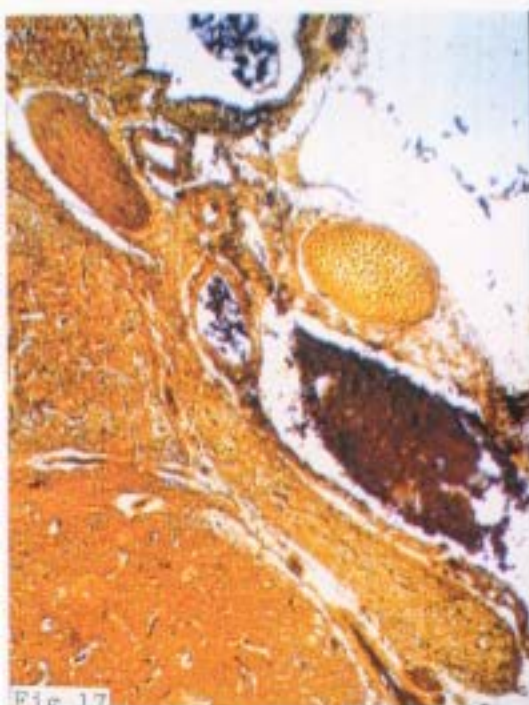


Fig.17

Fig.18

EMBRION O- 288

EMBRION: O-288

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 8 Z, 10 pares de somitos) en línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 15 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 6 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 42+ HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente desarrollado y ha alcanzado un estadio 41 HH.

Observamos que en la región craneal de la cabeza han crecido esbozos pigmentados de plumas. Después de quitar las plumas vemos que entre los globos oculares del receptor y en el extremo posterior de la cresta (bífida), aparece una pequeña elevación que está pigmentada solamente en su mitad derecha.

En la línea media, dorsal al injerto y en el interior, se aprecia una tonalidad oscura. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Observamos que a partir del injerto se ha desarrollado una cavidad tapizada por tejido cutáneo. En su interior han crecido gran cantidad de esbozos pigmentados de plumas. (figuras 3, 4, 6 y 7)

La mitad interna de la cavidad está rodeada por cartilago que surge parcialmente del tabique cartilaginoso que separa los ojos del embrión receptor. (figuras 3, 4 y 6)

Por fuera de la cavidad se ha desarrollado una estructura redondeada en la que observamos dos porciones, la interna presenta una tinción más oscura y tiene un aspecto similar al de las fibras cristalinianas. Rodeando esta formación fibrilar y parcialmente separada de ella, existe una corona de un tejido que capta de forma tenue el colorante y que podría corresponder al epitelio anterior del cristalino. Por el aspecto parece que el corte histológico ha coincidido con el diámetro ecuatorial, por lo que toda la circunferencia presenta un grosor y aspecto histológico muy similar. (figuras 3 a 5)

La formación cristaliniana está limitada internamente por la cavidad epidérmica y externamente por otra cavidad ópticamente vacía y tapizada por epitelio pigmentado. De hecho, el presunto epitelio anterior y el epitelio pigmentado están en íntimo contacto. (figuras 3 a 5)

En cortes más dorsales, donde ya ha desaparecido el cristalino, continúa la presencia del epitelio pigmentado limitando por fuera la cavidad epidérmica, pero su aspecto cambia, pues adopta forma de "ovillo" como un plegamiento. (figuras 6 y 7)

En los alrededores de este acúmulo de epitelio pigmentado no se observan indicios de que se haya desarrollado retina. (figura 7)

La localización de la pigmentación que observabamos en las figuras macroscópicas, coincide con la situación y el trayecto que tiene el epitelio pigmentado, pues vemos que microscópicamente no está en la línea media, sino ligeramente a la izquierda. (figuras 2 a 6)

EMBRIÓN O-288

Fig.1: Visión superior de la cabeza, donde observamos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (1x)

Fig.2: Detalle tras desplumar la cabeza. Vemos que la pigmentación se localiza en la mitad derecha del injerto (flecha) y que la cresta en su extremo dorsal tiene forma bífida. (1,3x)

Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra la localización y situación del injerto en relación a los globos oculares del receptor. (BB, 1x)

Fig.4: Corte donde se observa una cavidad que contiene esbozos de plumas (flechas) y por fuera el cristalino. (BB, 2x)

Fig.5: Detalle del cristalino limitado en su mitad externa por una cavidad tapizada por epitelio pigmentado. (BB, 10x)

Fig.6: Corte a otro nivel donde observamos la cavidad con esbozos de plumas (flecha) y un acúmulo o plegamiento del epitelio pigmentado que se sitúa junto a ella. (BB, 2x)

Fig.7: Detalle del plegamiento de epitelio pigmentado. En el interior de la cavidad vecina se aprecia con detalle el esbozo de una pluma (flecha). (BB, 10x)

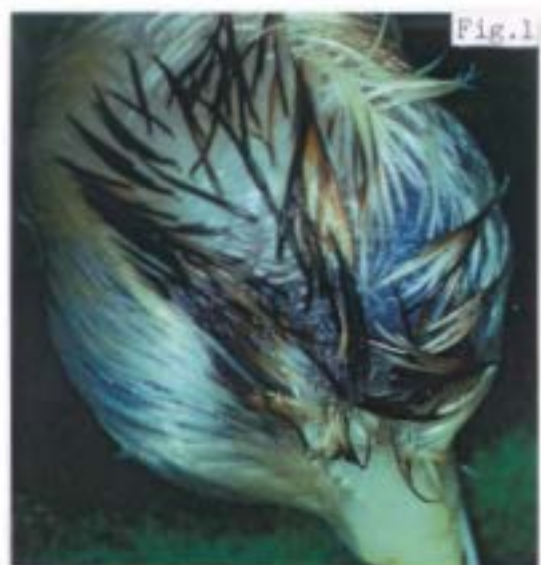


Fig.1

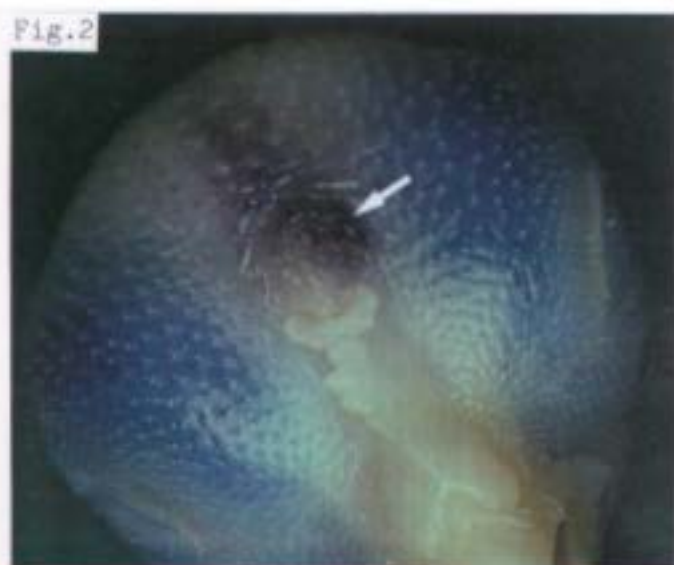


Fig.2

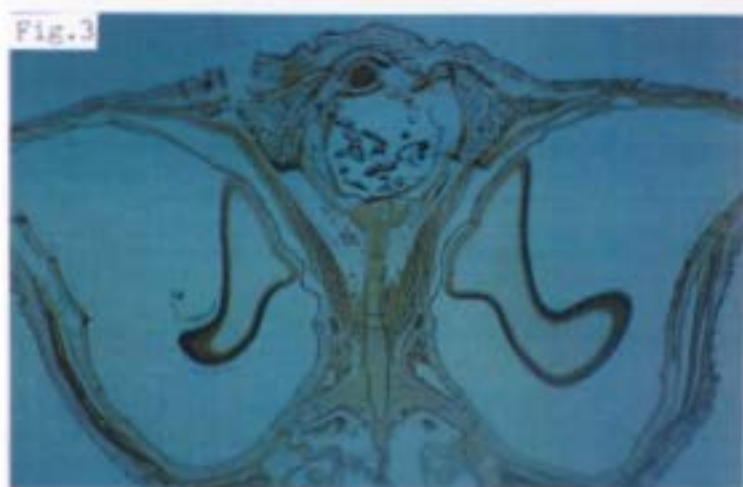


Fig.3



Fig.4

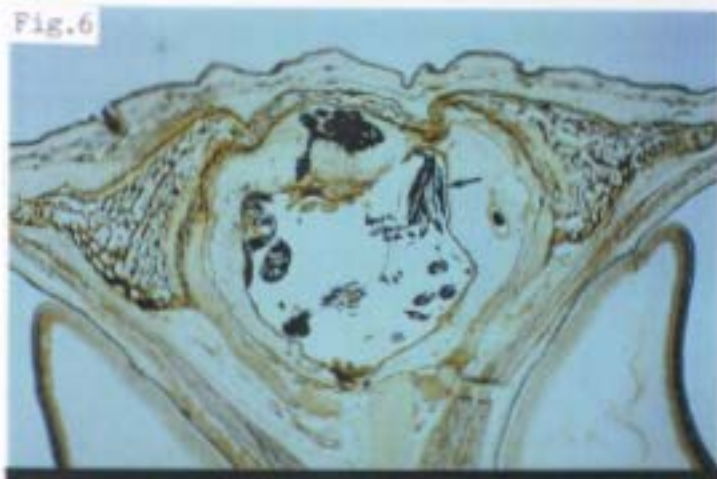


Fig.6



Fig.5

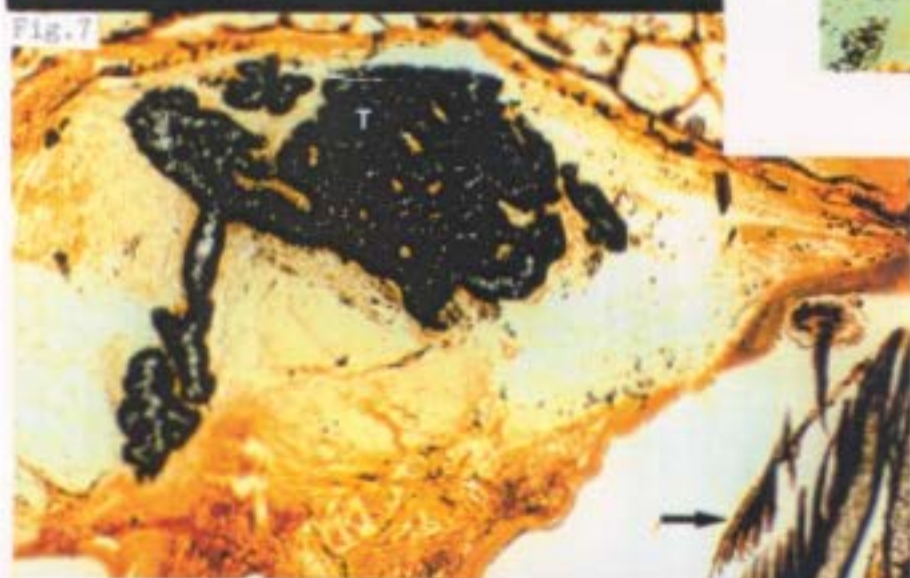


Fig.7

EMBRION O-259

EMBRION: O-259

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 9 Z, 13 pares de somitos), en el neuroporo anterior de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 34 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43+ HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión se ha desarrollado normalmente y ha alcanzado un estadio 42 HH.

En la región más craneal de la cabeza observamos la presencia de esbozos pigmentados de plumas y en el centro una pequeña elevación blanquecina.

En los globos oculares del receptor no existe pigmentación ni de los esbozos de plumas ni en el borde palpebral. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

A partir del injerto y en la zona más craneal de la cabeza del receptor se han desarrollado varias estructuras que iremos describiendo. (figura 2)

La piel de la cabeza del receptor se abomba para recubrir el injerto. A ese nivel, la piel es más lisa que en el resto de la cabeza, donde existe gran cantidad de esbozos de plumas. (figuras 2, 3, 4 y 6)

Observamos la presencia de un tejido muy pigmentado. En unas zonas tiene la apariencia de grandes acúmulos de pigmento (figura 3), mientras que en otras zonas se asemeja más a un epitelio pigmentado muy plegado, como un "ovillo". (figuras 5 y 6)

Este tejido pigmentado se localiza preferentemente en las regiones profundas del injerto, en contacto con el sistema nervioso del receptor. (figuras 2 a 6)

Vemos la presencia de tejido óseo distribuido anárquicamente. La disposición y morfología es muy variada; en unas zonas tiene forma de "media luna", protegiendo una estructura nerviosa que existe a ese nivel (figuras 3 a 5). En otras zonas la forma es ovalada. (figura 6)

Ya hemos dicho que se ha desarrollado una estructura nerviosa y que está parcialmente rodeada por tejido óseo.

Si comparamos el color de esta estructura nerviosa con el sistema nervioso del receptor vemos que el tejido nervioso que deriva del injerto presenta una tinción mucho más oscura que la del receptor.

No existen conexiones de este tejido nervioso con ninguna estructura nerviosa del receptor. (figuras 2 a 6)

No hemos observado la presencia de ningún tejido que recuerde la morfología de la retina.

Existen dos estructuras ovaladas cuya morfología de alguna manera recuerdan a la del cristalino. (figura 6)

La estructura más profunda tiene el aspecto de fibras cristalinianas cortadas transversalmente, aunque carece de epitelio anterior.

En la estructura más superficial identificamos un epitelio anterior que rodea las fibras cristalinas, pero cortadas longitudinalmente. (figura 6)

EMBRIÓN O-259

Fig.1: Visión dorsal superior de la cabeza, donde observamos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas que cubren parcialmente una pequeña protuberancia. (0,8x)

Fig.2: Corte frontal oblicuo que muestra la localización del injerto (flecha) en el embrión receptor. (BB, 0,75x)

Fig.3: Detalle donde vemos que a partir del injerto se han diferenciado, acúmulos de pigmento, tejido nervioso, tejido óseo y una estructura parecida a un cristalino. (BB, 4x)

Fig.4: Corte a otro nivel donde observamos que la piel que cubre el injerto presenta menos esbozos de plumas que el resto de la piel de la cabeza. (BB, 2x)

Fig.5: Corte donde vemos que el tejido óseo rodea parcialmente la estructura nerviosa y el epitelio pigmentado. (BB, 4x)

Fig.6: Detalle que muestra dos estructuras ovaladas que en cierta forma recuerdan la morfología del cristalino. También se observa el epitelio pigmentado muy plegado. (BB, 10x)

Fig.1



Fig.2

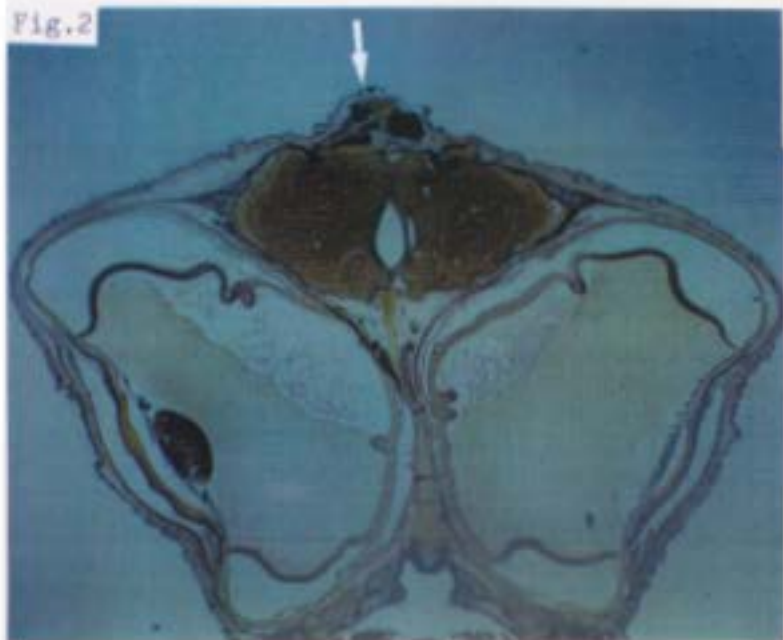


Fig.3

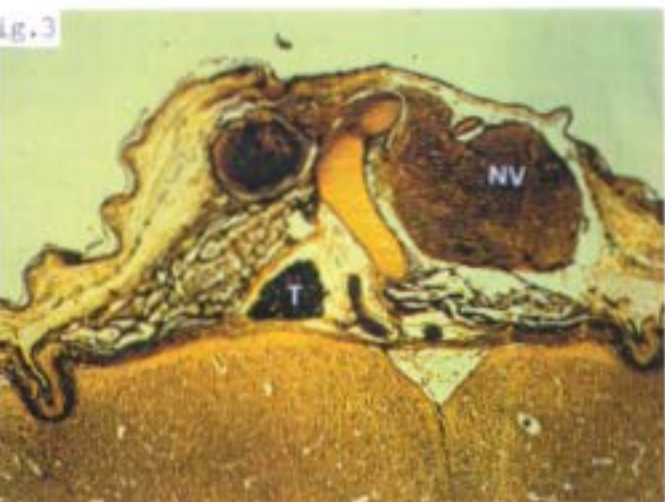


Fig.4

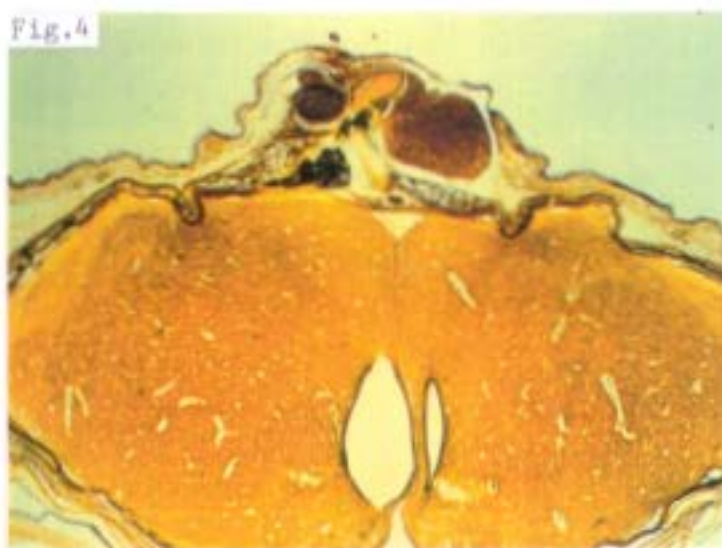


Fig.5

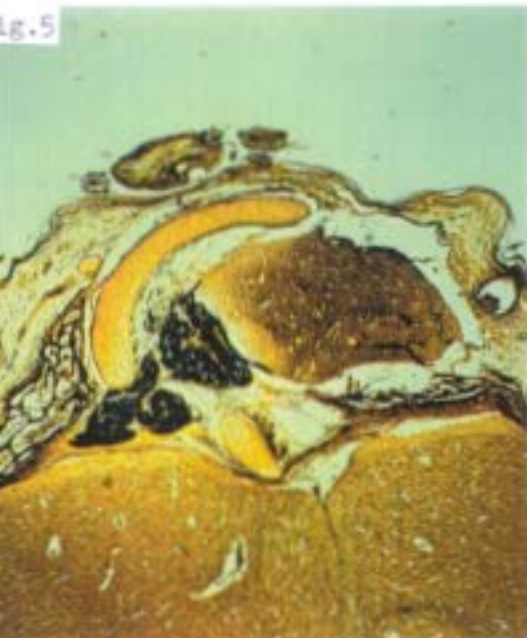
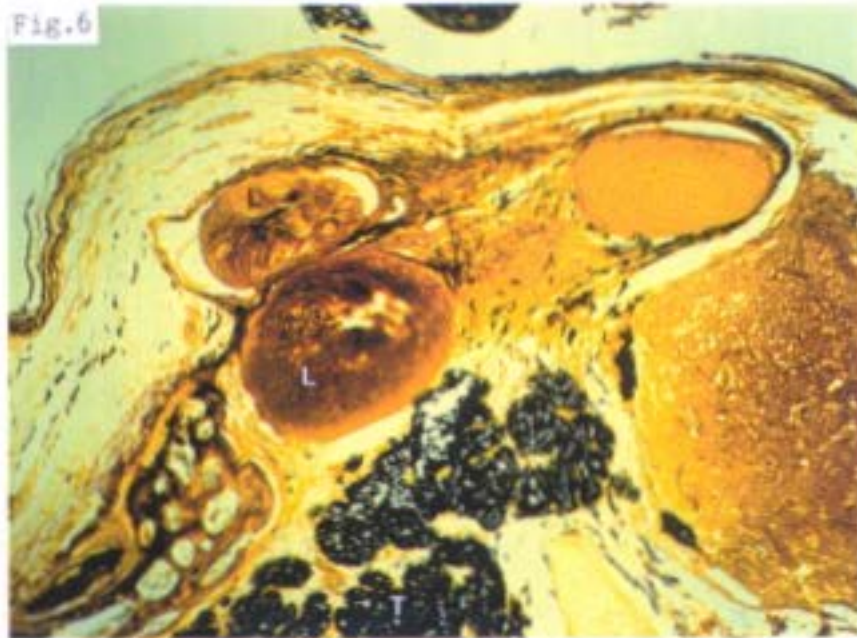


Fig.6



EMBRIÓN O-310

Fig.1: Visión lateral derecha de la cabeza donde vemos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas y una estructura que hace relieve en la zona más craneal. (1x)

Fig. 2: Visión craneal de la cabeza desplumada donde se observa la pigmentación de los párpados (flechas) y en el centro la estructura pigmentada que hace relieve. (1,5x)

Fig.1



Fig.2



EMBRION: O-310

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 9 Z, 13 pares de somitos), en el neuroporo anterior de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 17 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 57-58 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 44+ HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la región más craneal de la cabeza se ha desarrollado una estructura pigmentada que hace protusión y cubierta por plumas pigmentadas.

En ambos ojos, el párpado inferior presenta una sola hilera de plumas ligeramente pigmentadas.

Las plumas más o menos pigmentadas se distribuyen de forma casi simétrica. Cubren la cabeza (excepto la zona dorsal), rodean ambos ojos (menos la parte caudal) y desde los orificios de las fosas nasales se dirigen dorsalmente atravesando el párpado superior.

El pico superior presenta una ligera tonalidad ocre, sobre todo alrededor de los orificios nasales. (figura 1)

Al desplumar la cabeza vemos que la estructura craneal está muy pigmentada excepto en la zona izquierda.

El extremo dorsal de la cresta, en el límite anterior del injerto, se divide en dos adoptando forma bífida.

La piel de los párpados superiores es más oscura que el resto. El borde de los párpados superiores e inferiores presentan un color negro. (figura 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En el interior de la cabeza existe una cavidad que ocupa el lado derecho y se extiende en profundidad entre el sistema nervioso del receptor. (figuras 3 y 4)

Esta cavidad tapizada por un tejido semejante a la piel, está ocupada por esbozos pigmentados de plumas. Aunque sólo podamos observarlas en la zona más profunda, existen señales de su implantación en la región superficial. (figuras 3 a 5)

La zona izquierda de la protuberancia, que macroscópicamente tenía un color blanco, está ocupada por el sistema nervioso del embrión receptor. (figura 3)

Junto a la parte más profunda de la cavidad se ha desarrollado una estructura ovalada en sentido vertical y que capta con intensidad en colorante.

En el interior de la estructura existen fibras que, aunque dispuestas de forma anárquica, tienen un gran parecido a las fibras del cristalino. En el interior de algunas fibras se observan pequeños puntos intensamente teñidos que recuerdan la morfología que presentan los núcleos picnóticos de las fibras cristalinianas en algunos momentos del desarrollo. (figuras 4 y 5)

Junto al cristalino, aunque más profundo, se ha desarrollado una estructura en la que distinguimos dos zonas. (figuras 4 y 7)

La externa, pigmentada de forma irregular, corresponde al epitelio pigmentado y la interna tiene una morfología semejante a la retina.

El lateral izquierdo de la capa externa es grueso y está muy pigmentado, mientras que el lateral derecho presenta una hilera de células con el pigmento situado en la superficie interna que está en contacto con la retina. (figuras 7 a 9)

En la retina se observan algunas capas. La externa, en contacto con el epitelio pigmentado, tiene un aspecto uniforme y corresponde a los fotorreceptores.

A continuación existe otra capa, más gruesa, integrada por células con prolongaciones (axones y dendritas).

La siguiente capa está formada por fibras y en la zona más interna se distinguen algunas células ganglionares. En el centro existe una condensación fibrosa de cuya identidad dudamos, aunque creemos que corresponde al vítreo. (figuras 7 a 9)

Junto al extremo interno del cristalino se ha desarrollado una estructura formada por tejido óseo y cartilaginoso. (figura 6)

Fig.3: Corte frontal que muestra la situación del injerto y de la cavidad que se ha desarrollado en el interior de la cabeza del receptor. (BB, 0,7x)

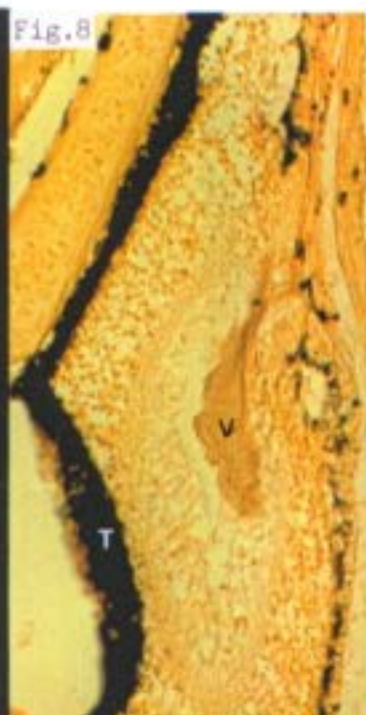
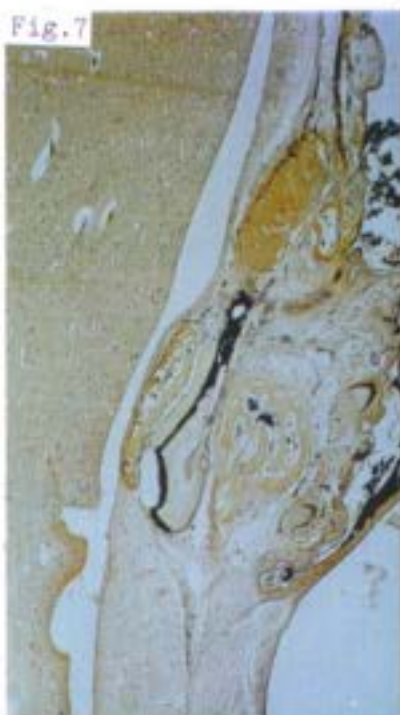
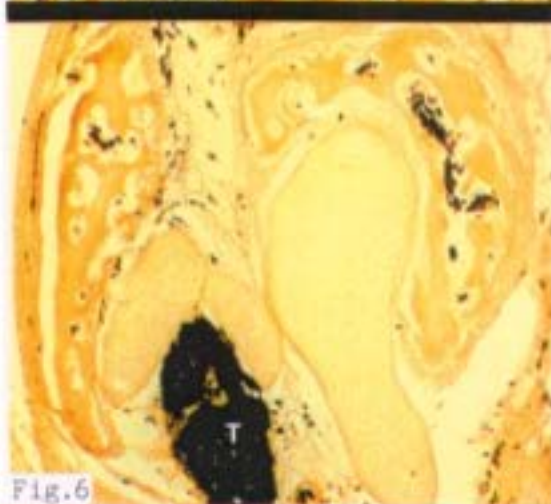
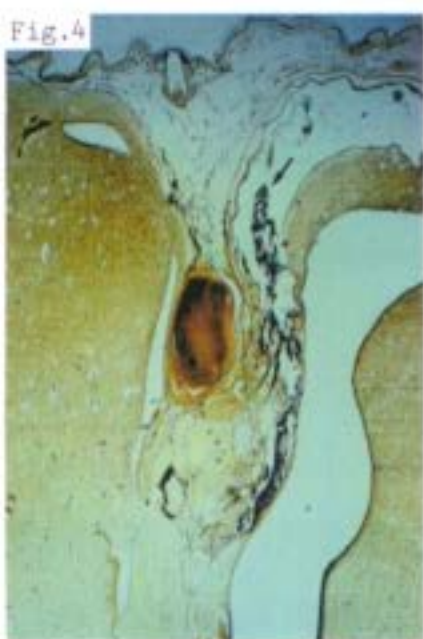
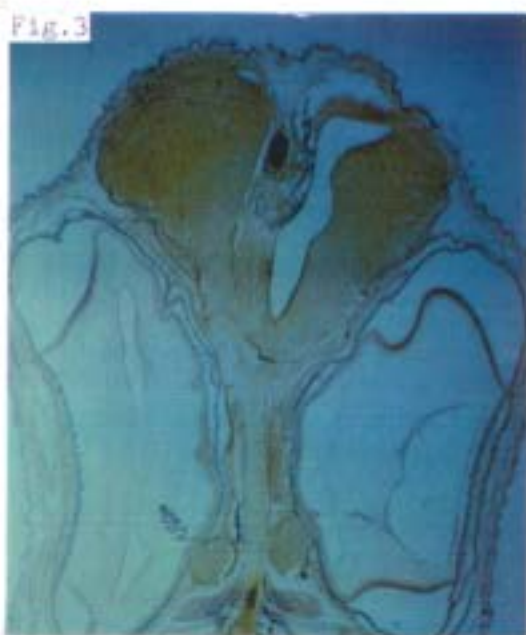
Fig.4: Corte donde observamos el cristalino y algunos esbozos pigmentados de plumas dentro de la cavidad (flecha). (BB, 2x)

Fig.5: Detalle del cristalino. Vemos las fibras y algunos núcleos picnóticos (flechas pequeñas). Junto a él existen esbozos pigmentados de plumas (flechas grandes). (BB, 10x)

Fig.6: Detalle del tejido óseo y cartilaginoso que se ha desarrollado debajo del cristalino. (BB, 10x)

Fig.7: Corte donde vemos el cristalino, retina y epitelio pigmentado. (BB, 40x)

Figs.8 y 9: Detalle del epitelio pigmentado y de la retina neurosensorial. En el centro se observa un acúmulo, posiblemente de vítreo. (BB, 20x y 40x)



EMBRION O-260

EMBRION: O-260

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en la línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 10 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 36 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43+ HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión está perfectamente desarrollado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la zona craneal y media de la cabeza, dorsal al globo ocular izquierdo del embrión, han crecido algunos esbozos pigmentados de plumas.

Tras desplumar la cabeza observamos que en la línea media, entre ambos ojos y algo dorsal, se ha desarrollado una estructura blanca de consistencia dura.

Craneal y dorsal al ojo izquierdo observamos una zona de pigmentación oscura cubierta por la piel. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

La formación blanca de consistencia dura que veíamos macroscópicamente presenta una estructura histológica compatible con el pico. (figura 4)

En el interior de la cavidad craneal se han desarrollado varias estructuras derivadas del injerto. (figuras 2 y 3)

Existe una estructura redondeada semejante al cristalino, aunque las fibras que lo forman no tengan la ordenación típica de las fibras cristalínas. (figura 5)

Junto a la superficie interna del cristalino se ha desarrollado un epitelio pigmentado, que al no disponer de espacio para crecer libremente, se ha plegado. (figuras 5 y 6)

Este epitelio pigmentado engloba parcialmente a la retina en la que, a pesar de estar también plegada, existen zonas donde podemos identificar con nitidez casi todas sus capas.

En la superficie de la retina que se relaciona con el epitelio pigmentado, observamos los fotorreceptores con los artículos externos y en la zona central de los pliegues se distingue una capa, ligeramente más pigmentada que probablemente corresponde a las fibras ópticas. Junto a ellas existen algunas células ganglionares y otra capa más ancha que identificamos como la plexiforme interna. (figuras 5 y 6)

La piel que cubre al cristalino capta con intensidad el colorante. (figura 5)

Junto a la retina y al epitelio pigmentado se han desarrollado algunos fragmentos de cartílago. (figuras 3 y 5)

EMBRION O-260

Fig.1: Visión dorso-craneal de la cabeza donde vemos la distribución de los esbozos pigmentados de plumas y debajo de la piel cubierta por esas plumas aparece una pigmentación oscura. Entre los ojos del receptor observamos una estructura blanca que corresponde a un pico (flecha). (0,83x)

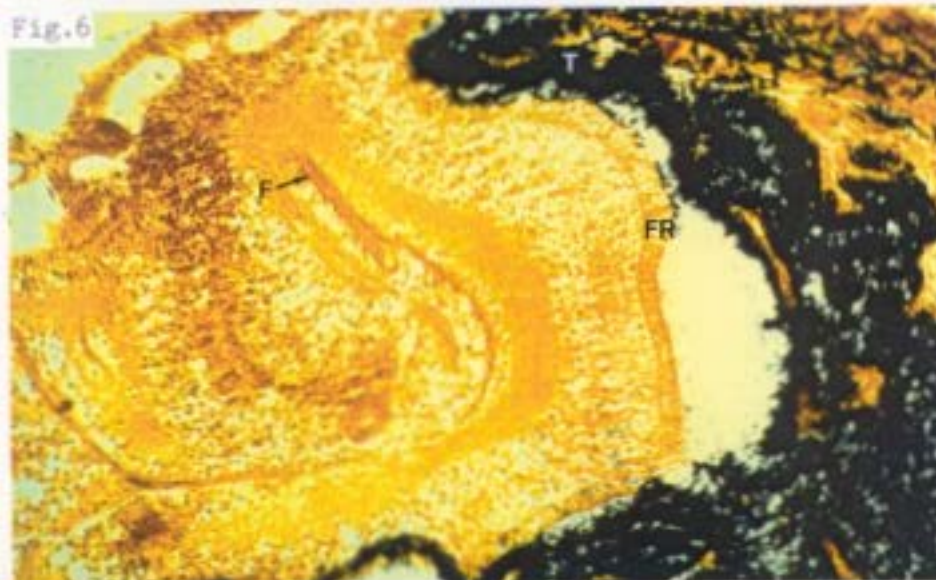
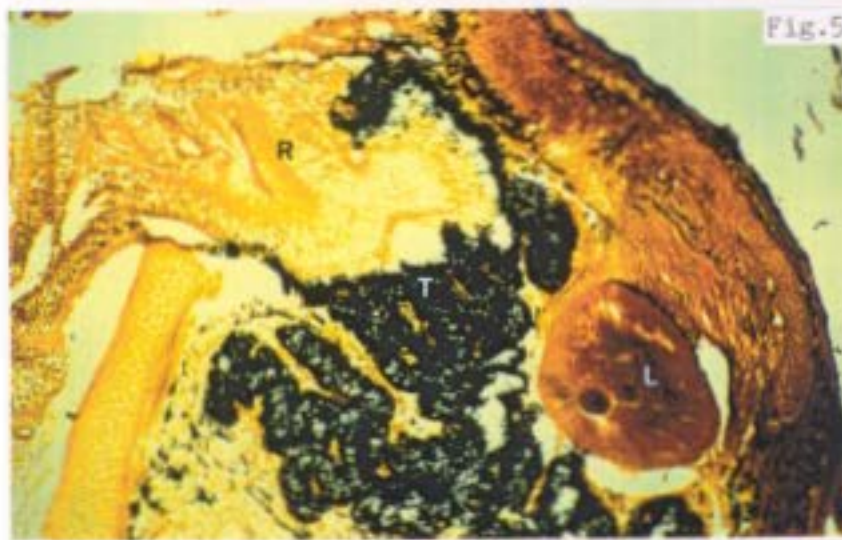
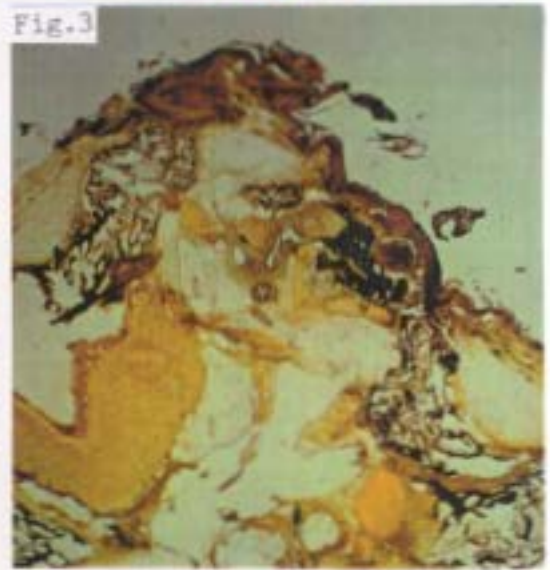
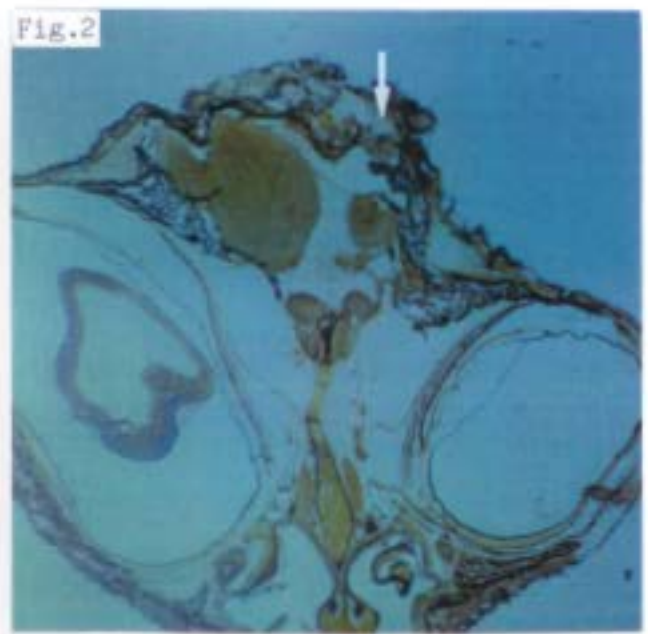
Fig.2: Corte frontal oblicuo donde observamos la situación de algunas estructuras que se han desarrollado a partir del injerto (flecha). (BB, 0,9x)

Fig.3: Corte que muestra la presencia de un acúmulo de pigmento y junto a él estructuras cartilaginosas. (BB, 2x)

Fig.4: Detalle del fragmento de pico que se ha desarrollado entre los dos ojos del receptor. (BB, 10x)

Fig.5: Detalle del injerto donde vemos el epitelio pigmentado y la retina muy plegados. También se ha desarrollado un cristalino en contacto con la superficie del embrión. (BB, 10x)

Fig.6: Detalle del epitelio pigmentado y de la retina. En esta última se distinguen algunas capas como la de los fotorreceptores y otra muy fina situada en el centro que identificamos como fibras ópticas. (BB, 20x)





EMBRION O-263

Fig.1: Visión craneal de la cabeza donde se observa que en la zona media se han desarrollado algunos esbozos pigmentados de plumas y cubierta por la piel una estructura de pigmentación muy oscura. (0,83x)

EMBRION: O-263

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 10 Z, 16 pares de somitos), en línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 13 HH).

Se reincuba durante 15 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 12 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la región más craneal y media de la cabeza se ha desarrollado una estructura de color oscuro que protuye ligeramente y cubierta de piel. A ese nivel aparecen algunos esbozos pigmentados de plumas. (figura 1)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

Cubierto por la piel del receptor se ha desarrollado parte de un globo ocular orientado hacia el interior de la cavidad craneal. (figuras 2, 3, 6, 14 y 17)

En el globo ocular faltan algunas estructuras importantes como la córnea, el iris y el pecten. Sin embargo, otras como la retina y el epitelio pigmentado presentan algunas características interesantes.

La pared del ojo está formada por esclera, coroides, epitelio pigmentado y retina. (figuras 3, 14 y 16)

Rodeando la esclera y cubiertos por la piel, se han desarrollado algunos músculos oculares extrínsecos que se insertan en la propia esclera. (figuras 3, 14 y 16)

La esclera tiene, en general, forma ovoide; sus bordes (ligeramente engrosados) dejan un orificio cuyo diámetro varía de unas zonas a otras del injerto. (figuras 3 y 14)

La presencia del cristalino coincide con el menor diámetro del orificio escleral, por lo que a veces observamos que la región ecuatorial del cristalino está comprimida por los bordes de la esclera. (figura 17)

A ese nivel vemos que la superficie interna y externa de los bordes está tapizada por unos pliegues formados por epitelio pigmentado y retina ciega que corresponden a los procesos ciliares. (figuras 3, 4, 10, 11 y 17)

Antes de seguir con las estructuras propiamente oculares, queremos destacar la presencia de otras formaciones que se han desarrollado por fuera de la esclera. En la región lateral del ojo vemos una estructura de naturaleza nerviosa junto a otra formada por tejido óseo (figuras 14 y 15) y en cortes sucesivos observamos que se ha desarrollado otra, cuya estructura histológica corresponde a tejido glandular. (figuras 17 y 18)

El cristalino está bien desarrollado aunque, debido a la dirección de los cortes, en algunas zonas sólo vemos la región ecuatorial en uno de los laterales (figura 3). Como ya hemos descrito anteriormente en algunas zonas, el cristalino está comprimido por los bordes de la esclera. (figura 17)

Entre la esclera y el epitelio pigmentado se ha desarrollado la coroides en cuyo espesor destaca el pigmento y los vasos sanguíneos, algunos de ellos de gran tamaño. (figura 16)

La retina y el epitelio pigmentado se han desarrollado tanto por dentro como por fuera del límite escleral (figuras 2, 3, 6 y 17)

El epitelio pigmentado junto a la coroides tapiza la superficie interna de la esclera. A nivel de los bordes se pliega (formando parte de los procesos ciliares), sobrepasa el orificio escleral y fuera ya del globo ocular cubre parte de su superficie externa. Por último poco después desaparece. (figuras 3, 4, 10, 11 y 17)

Hemos observado que fuera del globo ocular existen algunas islas de epitelio pigmentado, pero son muy escasas. (figuras 6, 7, 13, 14 y 18)

En algunas zonas vemos que en el interior del globo ocular, el epitelio pigmentado presenta pliegues que acompañan, en parte, a pliegues de la retina neurosensorial. (figura 14)

En el interior del globo ocular, la retina neurosensorial conserva una morfología uniforme (figuras 3 y 17). La mayor parte está separada del epitelio pigmentado y en algunas zonas presenta pliegues. (figura 14)

En las zonas donde no ha perdido contacto con el epitelio pigmentado se observan numerosas interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado. (figura 8)

En el espesor de la retina neurosensorial vemos pocas células ganglionares y no distinguimos la capa de fibras ópticas. (figura 8)

La *pars terminalis retinae* se realiza de forma brusca, dentro y fuera del globo ocular. Prácticamente no existe *pars plana retinae*, ya que después de la transición, la retina ciega se pliega para formar la *pars ciliaris retinae* que a su vez rodea el borde escleral. (figuras 3, 10 y 11)

Aunque la retina neurosensorial desarrollada fuera del globo ocular ha crecido formando una cavidad cerrada (como un compartimento estanco) (figuras 5 y 17), presenta diferentes aspectos morfológicos.

Unas veces tiene una estratificación similar a la que veíamos en la retina diferenciada dentro del ojo; pero aquí las células ganglionares son más escasas y a pesar de no existir epitelio pigmentado se han desarrollado los artículos externos de los fotorreceptores que están libres. (figura 9)

En la zona donde aparece el cristalino, existen grandes y numerosos pliegues. (figuras 2, 4 y 17)

En regiones periféricas del injerto la cavidad cerrada que forma la retina, se colapsa por lo que ambas superficies internas (capa de células ganglionares) se ponen en contacto (figuras 7 y 12). En la zona más profunda se une al sistema nervioso del receptor de tal forma que es difícil independizar ambas estructuras. (figuras 13 y 19)

El cuerpo vítreo se ha desarrollado dentro y fuera del globo ocular. (figuras 3, 5 y 17)

Fig.2: Corte frontal oblicuo que muestra la situación del injerto en el interior de la cabeza del embrión. (BB, 1x)

Fig.3: Corte del injerto donde vemos que en el globo ocular se ha desarrollado el cristalino y fuera existen grandes pliegues de retina neurosensorial. (BB, 4x)

Fig.4: Detalle de la retina neurosensorial que ha crecido plegada fuera del globo ocular. (BB, 10x)

Fig.5: Dentro de la cavidad que forma la retina fuera del globo ocular, se ha desarrollado vítreo. (BB, 4x)

Fig.6: Corte a otro nivel donde vemos que la retina neurosensorial crece al interior de la cavidad craneal y se une al sistema nervioso del receptor. (BB, 1x)

Fig.7: Detalle de las dos retinas neurosensoriales fusionadas y su unión con el sistema nervioso del receptor (flecha). (BB, 10x)

Fig.2

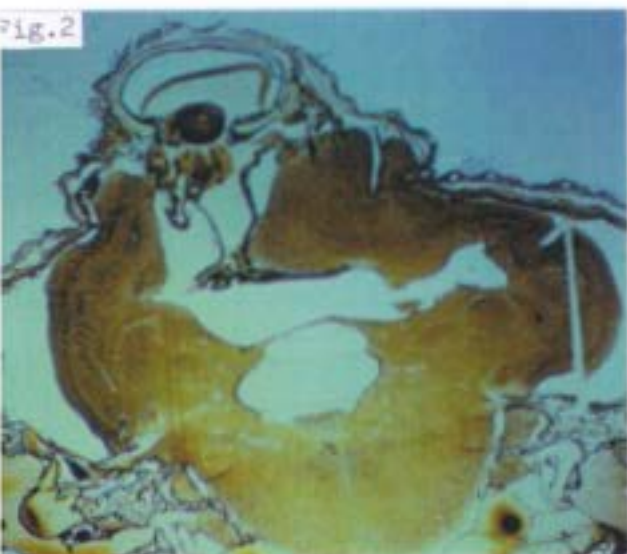


Fig.3

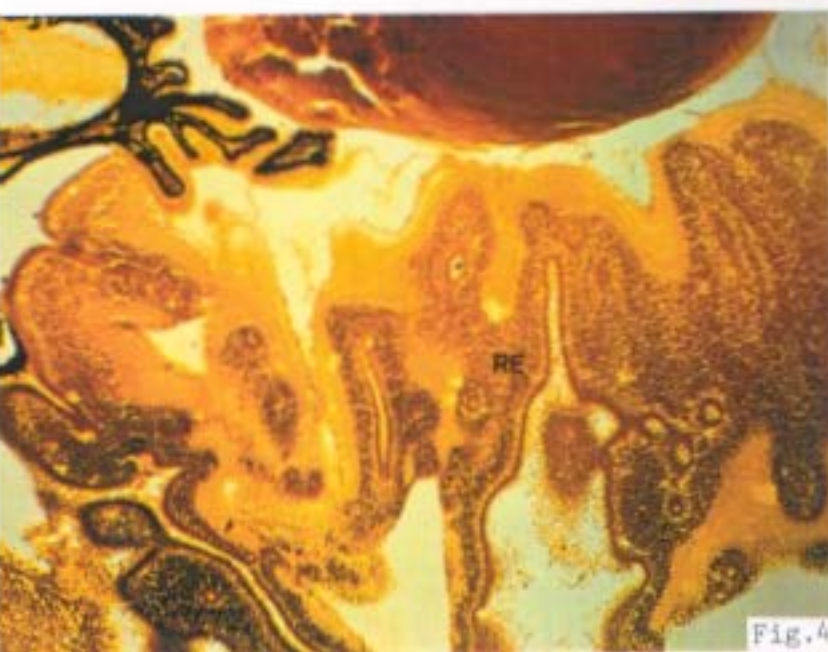
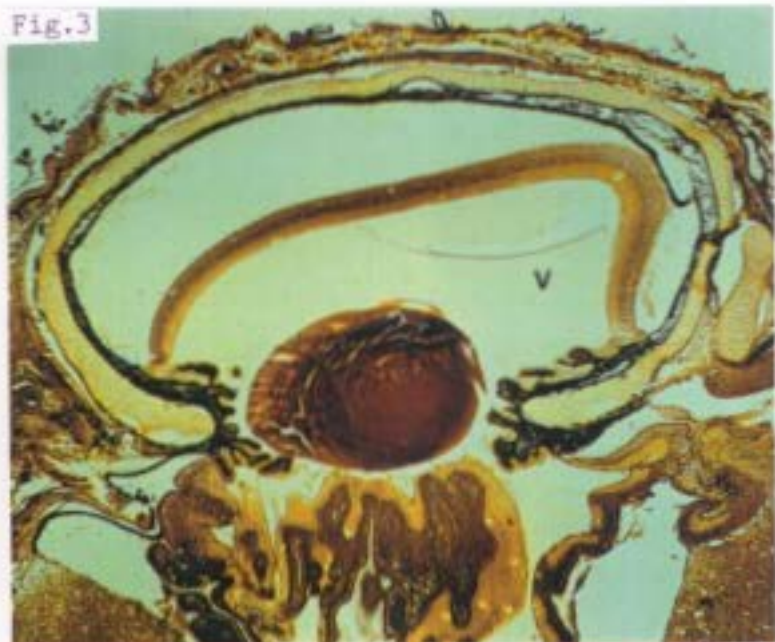


Fig.4



Fig.5



Fig.7

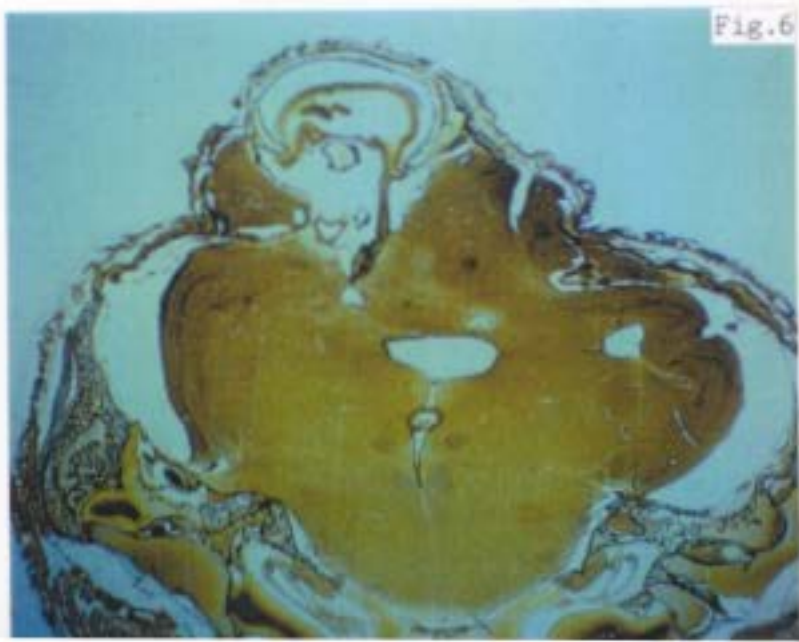


Fig.6

Fig.8: Detalle de la retina neurosensorial que se ha desarrollado en el interior del globo ocular. (BB, 40x)

Fig.9: Detalle de la retina neurosensorial que se ha desarrollado fuera del globo ocular. (BB, 40x)

Fig.10: Detalle de la *pars terminalis retinae* del interior del globo ocular. (BB, 40x)

Fig.11: Detalle de la *pars terminalis retinae* fuera del globo ocular. Vemos también algunos procesos ciliares. (BB, 40x)

Fig.12: Detalle de las dos retinas neurosensoriales (unidas por su superficie interna) donde destacan los artículos externos de los fotorreceptores haciendo relieve en la superficie de ambas. (BB, 40x)

Fig.13: Corte que muestra la unión de la retina neurosensorial con el sistema nervioso del receptor. (BB, 10x)

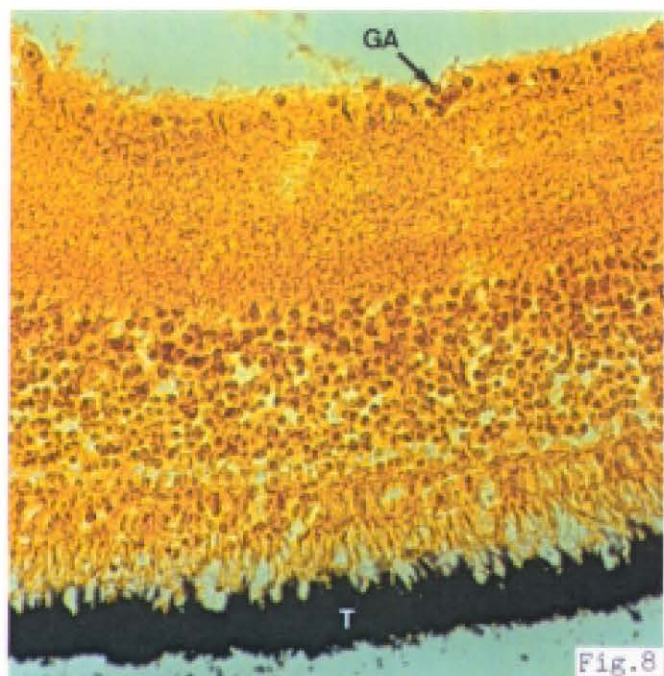


Fig.8

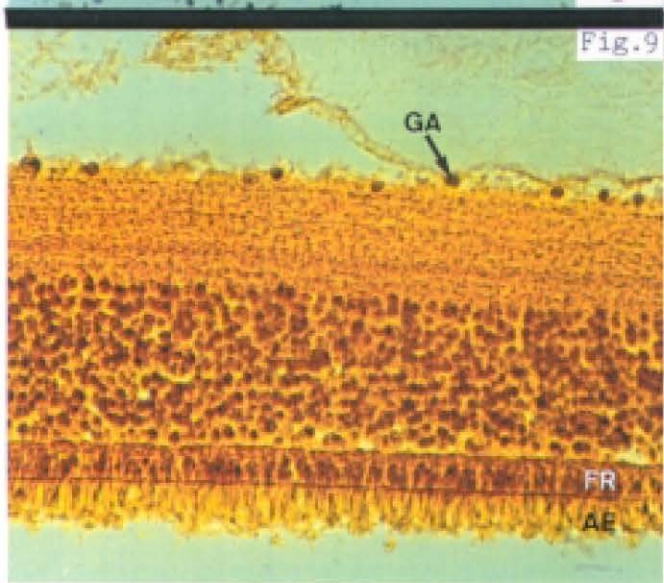


Fig.9

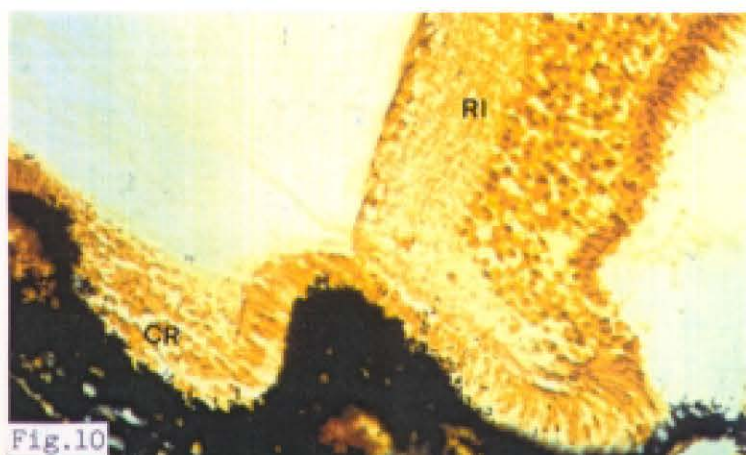


Fig.10



Fig.11

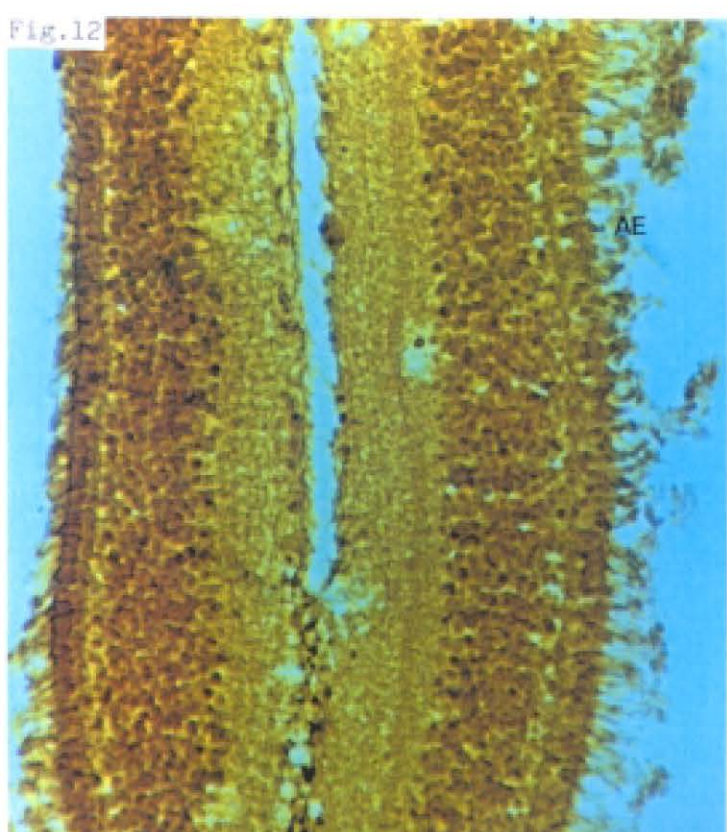


Fig.12



Fig.13

Fig.14: Corte que muestra algunos pliegues del epitelio pigmentado y en el lateral del globo ocular dos estructuras, una cartilaginosa y otra formada por tejido nervioso. (BB, 4x)

Fig.15: Detalle de la estructura formada por tejido nervioso. (BB, 20x)

Fig.16: Detalle de la pared del globo ocular donde vemos la musculatura ocular extrínseca, la esclera, la coroides (con pigmento y grandes vasos sanguíneos) y el epitelio pigmentado. (BB, 20x)

Fig.17: Corte del injerto a otro nivel que muestra ambas retinas neurosensoriales (dentro y fuera del globo ocular). También vemos una estructura fuera del ojo que parece una glándula (asterisco). (BB, 2x)

Fig.18: Detalle de la estructura glandular y de la unión de la retina neurosensorial con el sistema nervioso del receptor. (BB, 10x)

Fig.19: Detalle de la unión de la retina neurosensorial con el sistema nervioso del receptor. (BB, 10x)

Fig.14 Fig.15

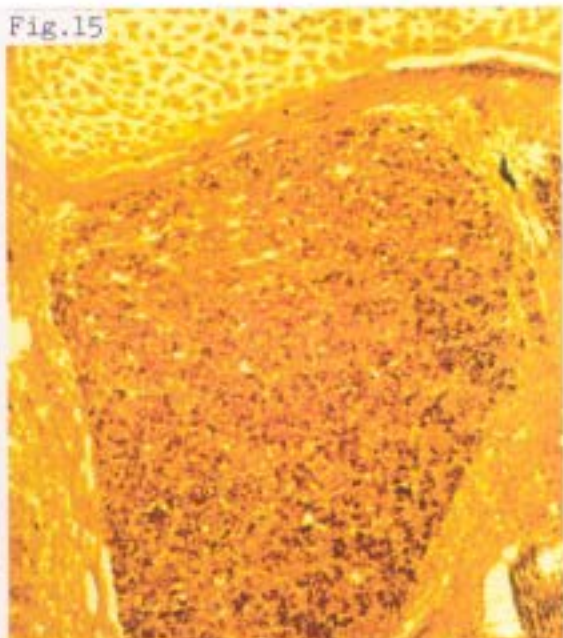
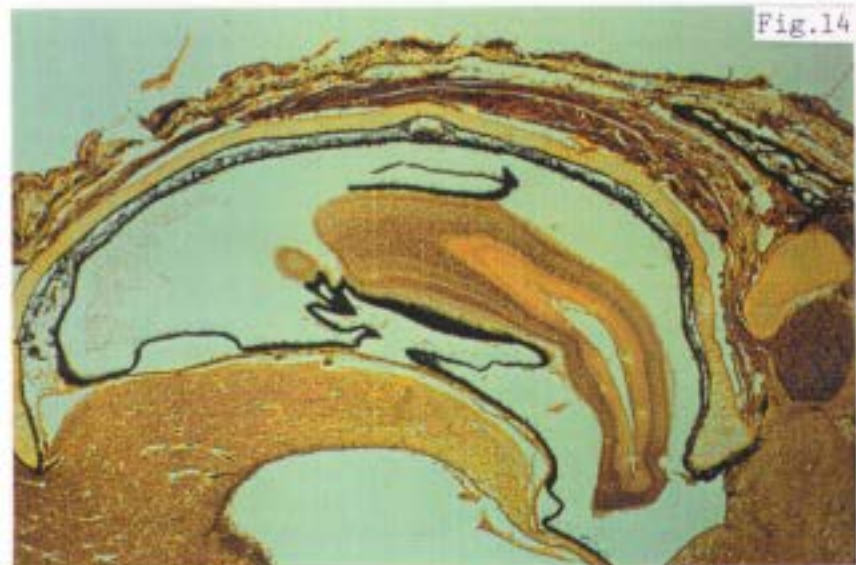
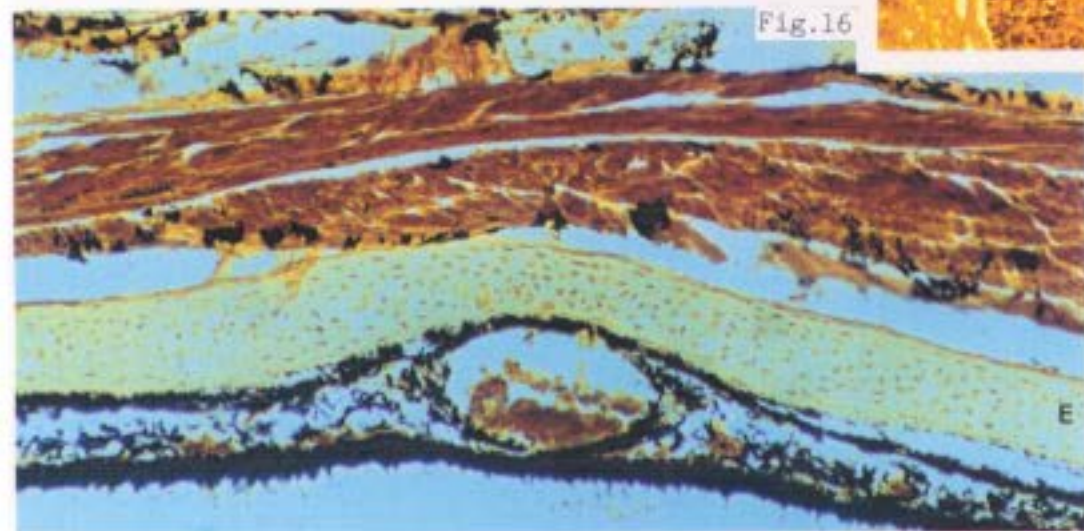


Fig.16



MO

E

CO

Fig.17 Fig.18

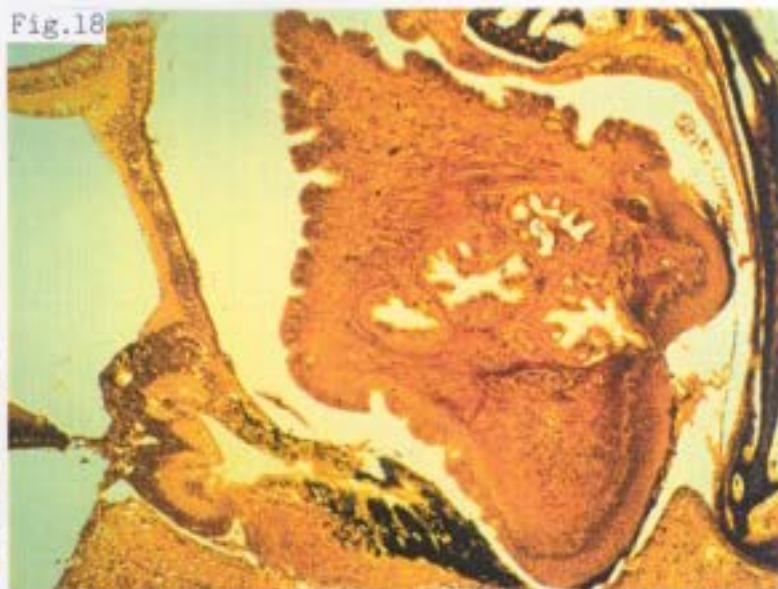
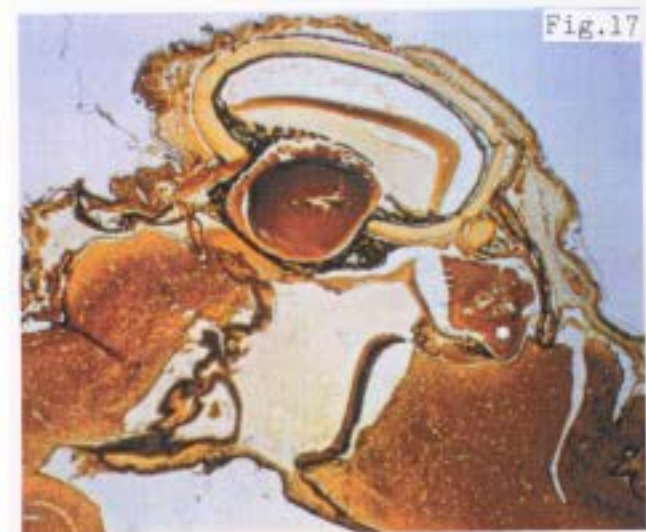


Fig.19



RE

EMBRION O-173

Figs.1 y 2: Visiones craneales de la cabeza donde se observa la situación de los esbozos pigmentados de plumas y de la estructura redonda y pigmentada que se ha desarrollado a partir del injerto. (0,83x y 1,8x)



EMBRION: O-173

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 11 Z, 19 pares de somitos) en línea mediodorsal del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 12 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 36 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 44 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado y ha alcanzado un estadio 43 HH.

En la zona más craneal de la cabeza se observa un penacho de esbozos pigmentados de plumas. Debajo de estas plumas y cubierta por la piel se ha desarrollado una estructura redonda y pigmentada. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

En el interior de la cabeza se ha desarrollado un globo ocular cubierto por piel y rodeado parcialmente por el sistema nervioso del receptor. (figuras 3 y 4)

La especial dirección del corte nos permite ver en un lado del cristalino, la zona central del epitelio anterior (desprendido) y en el lado opuesto se puede observar, como del ecuador se originan las fibras secundarias con sus núcleos aún visibles y como se incorporan al interior del cristalino. (figuras 4 y 5)

La mayor parte del cristalino está fuera de la cavidad ocular. Sin embargo, hay zonas donde los bordes de la vesícula óptica se unen a la región preecuatorial del epitelio anterior. (figura 5)

Los procesos ciliares presentan grandes y numerosos pliegues. En el espesor de los pliegues observamos el epitelio pigmentado tapizado por la retina ciega (*pars ciliaris retinae*). (figura 6)

A partir de la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado el epitelio pigmentado. En la mayoría del injerto presenta un grosor inferior cuando se relaciona con la retina neurosensorial, que cuando forma parte de los procesos ciliares y del resto de retina ciega. (figuras 5 a 8)

A partir de la capa interna de la vesícula óptica se ha desarrollado la retina (neurosensorial y ciega).

En la retina neurosensorial identificamos con claridad todas las capas, incluso los fotorreceptores con sus artículos externos y las células ganglionares. Sin embargo, la capa de fibras ópticas es muy fina. (figuras 6 a 8)

La retina neurosensorial presenta numerosos pliegues a los que no acompaña el epitelio pigmentado. Estos pliegues tienen, en general, un desarrollo normal. (figura 6)

Observamos que a nivel de la *pars terminalis retinae* se fija la hialoides vítrea. (figura 8)

La limitante interna acompaña a la hialoides vítrea en el colapso que sufre el vítreo. (figuras 6 a 8)

En algunas zonas, el epitelio pigmentado está rodeado por una capa vascularizada y parcialmente pigmentada, que puede corresponder a la coroides. (figuras 7 y 8)

No hemos observado indicios del nervio óptico ni esbozos del pecten y no se ha desarrollado ni la córnea ni la esclera.

Fig.3: Corte frontal oblicuo donde vemos que el injerto se ha desarrollado en el interior de la cabeza, cubierto por la piel (flecha). (BB, 0,8x)

Fig.4: Corte donde observamos que, rodeado por el sistema nervioso del receptor, existe un globo ocular con cristalino, retina y epitelio pigmentado. (BB, 2x)

Fig.5: Detalle del cristalino donde vemos el epitelio anterior y la perfecta ordenación de las fibras. (BB, 20x)

Fig.6: Corte donde observamos que en el globo ocular se han desarrollado los procesos ciliares. En el interior existe vítreo. (BB, 10x)

Fig.7: Detalle de la retina neurosensorial donde distinguimos con claridad todas sus capas. También vemos el epitelio pigmentado. (BB. 40x)

Fig.8: Detalle de la *pars terminalis retinae*. A ese nivel observamos la presencia de la limitante interna y la hialoides vítrea (flechas). (BB, 40x)

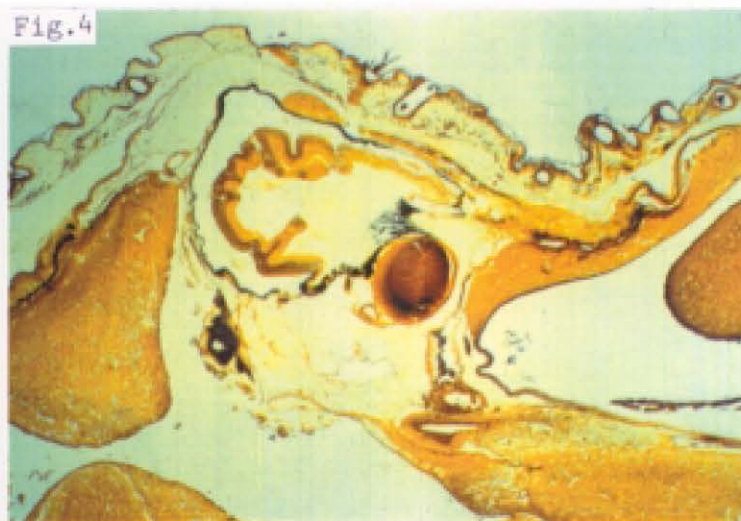
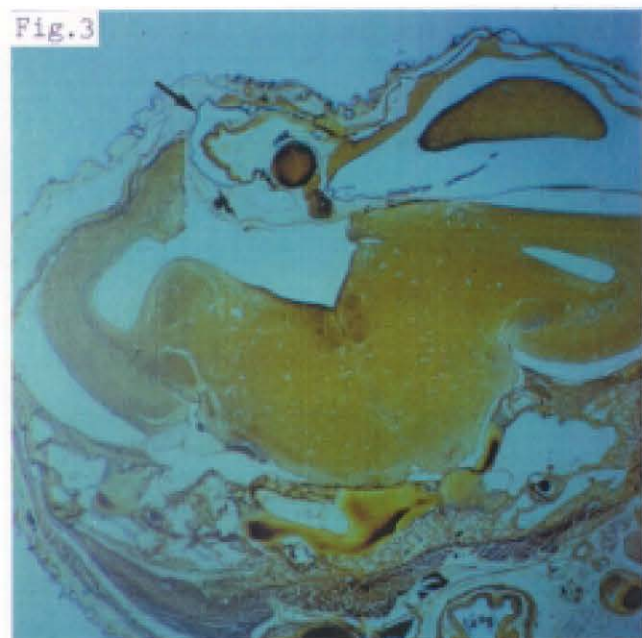
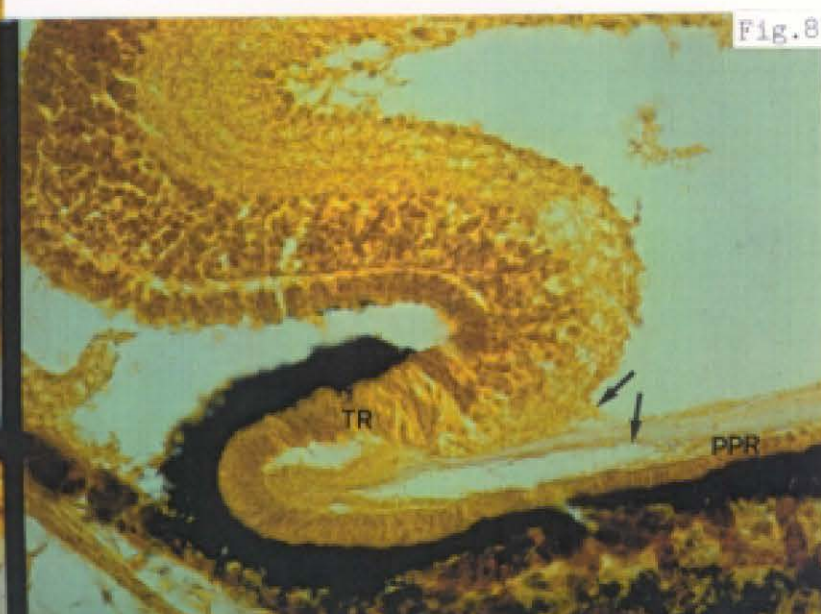
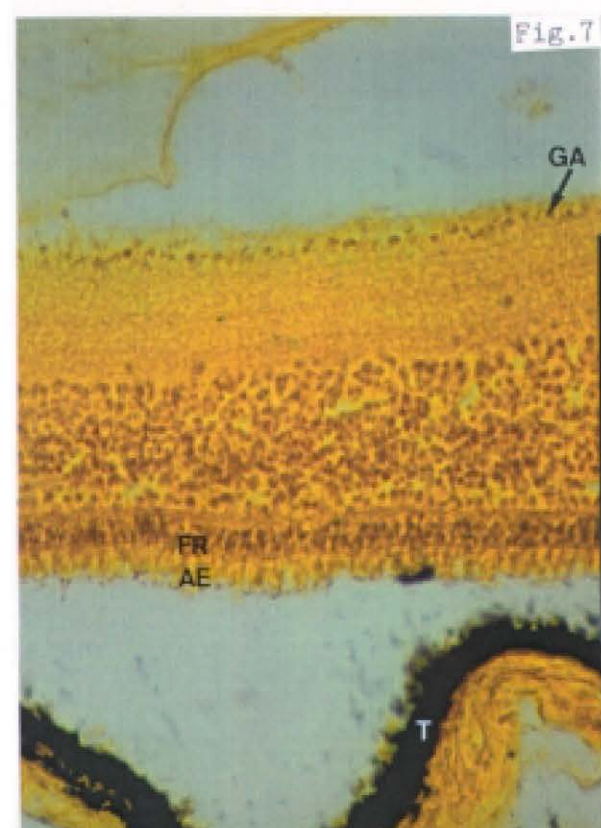
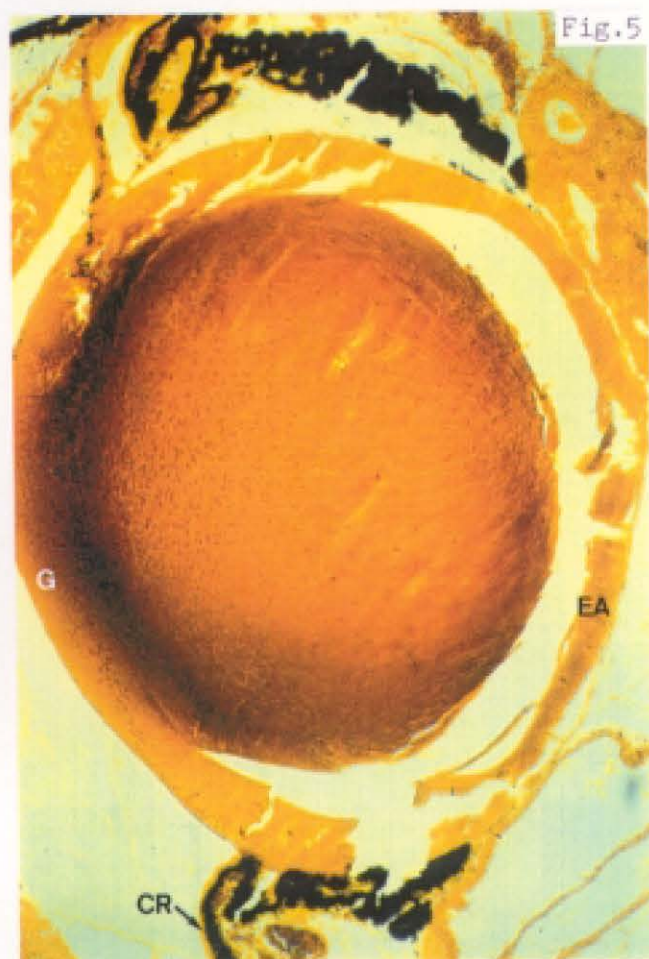


Fig.6



EMBRION O-227

EMBRION: O-227

Injerto de vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 12 Z, 22 pares de somitos), en la región craneal y media del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 11 HH).

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 40-42 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43-44 HH.

ESTUDIO MACROSCOPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado, excepto por la microftalmia izquierda que presenta y ha alcanzado un estadio 41 HH.

El orificio del conducto auditivo externo izquierdo tiene aspecto piriforme y está orientado hacia el ojo.

El pico superior es más corto que el inferior y está desviado a la izquierda. El borde libre de la cresta también se ha desplazado a la izquierda.

Los esbozos pigmentados de plumas cubren el ojo microftálmico; también se han desarrollado junto a los orificios de las fosas nasales y a ambos lados de la cresta. (figura 1)

Tras desplumar completamente la cabeza vemos que la hendidura palpebral izquierda se reduce a un pequeño orificio cuyo reborde está muy pigmentado.

Debajo de la piel existe una pigmentación oscura que es más intensa en la zona dorsal al reborde pigmentado. (figura 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

No observamos ninguna estructura ocular compatible con el desarrollo del injerto, pero existe una microftalmía izquierda.

El tectum óptico derecho es mucho más pequeño que el izquierdo. (figura 3)

El ojo microftálmico presenta, a nivel del segmento anterior, la retina ciega y el epitelio pigmentado cubriendo la cápsula posterior del cristalino, no existiendo iris.

El epitelio anterior del cristalino tiene un grosor parecido, tanto en la zona central como a nivel ecuatorial y preecuatorial. Está fusionado a la córnea.

La córnea presenta una morfología atípica si la comparamos con la córnea contralateral. (figura 3)

La retina ciega y el epitelio pigmentado, forman unos pequeños pliegues parecidos al esbozo de los procesos ciliares.

Existe un plegamiento del epitelio pigmentado que hace relieve en el interior del globo ocular.

En la zona de los pliegues, la retina es más delgada que en el resto, pierde la estratificación en capas y desaparecen los fotorreceptores. (figuras 4 y 5)

EMBRIÓN O-227

Fig.1: Visión lateral izquierda de la cabeza donde se observa la microftalmía izquierda y la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (1x)

Fig.2: Detalle del globo ocular izquierdo tras quitar los esbozos de plumas. Vemos que la hendidura palpebral es un pequeño orificio parcialmente rodeado por un reborde muy pigmentado (flecha). (1,3x)

Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra la microftalmía izquierda. (BB, 0,8x)

Fig.4: Detalle del ojo microftálmico donde vemos que en el cristalino, la cápsula posterior está tapizada por el epitelio pigmentado y la retina ciega; y el epitelio anterior está parcialmente fusionado a la córnea. También observamos unos pliegues del epitelio pigmentado (flecha). (BB, 2x)

Fig.5: Detalle de los pliegues del epitelio pigmentado que hacen relieve en el interior del globo ocular. A ese nivel desaparecen los fotorreceptores de la retina neurosensorial (flecha). (BB, 10x)

Fig.1



Fig.2



Fig.3

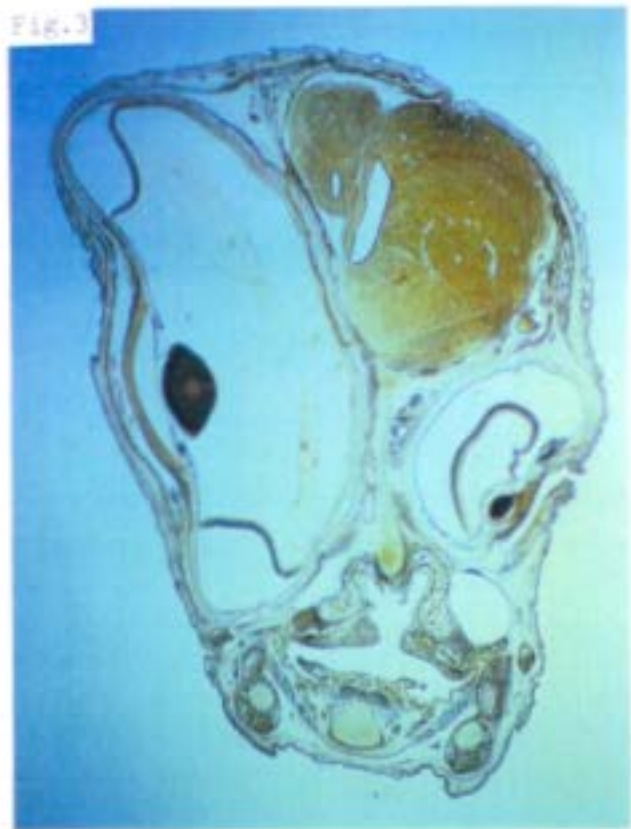


Fig.4



Fig.5



EMBRION O- 230

EMBRIÓN: O-230

Injerto de la vesícula óptica derecha de un embrión de codorniz (E: 12 Z, 22 pares de somitos), en la región craneal y media del diencéfalo de un embrión de pollo (E: 11+ HH)

Se reincuba durante 16 días. Al abrir el huevo, el embrión está vivo y se fija en Formol neutro 10%.

Estadio teórico del Donante: 40-42 horas posteclosión.

Estadio teórico del Receptor: 43-44 HH.

ESTUDIO MACROSCÓPICO:

El embrión receptor está perfectamente formado, excepto por la microftalmia izquierda que presenta y ha alcanzado un estadio 41 HH.

El orificio del conducto auditivo externo izquierdo tiene aspecto ovalado y está orientado hacia el ojo.

El pico superior es más corto que el inferior y está desviado a la izquierda. El borde de la cresta también está desplazado a la izquierda.

Los esbozos pigmentados de las plumas cubren parcialmente el ojo microftálmico.

La hendidura palpebral se reduce a un pequeño orificio cuyos bordes están ligeramente pigmentados.

Debajo de la piel de los párpados observamos una ligera pigmentación oscura. (figuras 1 y 2)

ESTUDIO MICROSCOPICO:

No observamos ninguna estructura ocular que haya podido desarrollarse a partir del injerto, pero existe una microftalmia izquierda. (figura 3)

La superficie interna del cristalino está parcialmente rodeada por un pliegue de la retina ciega y del epitelio pigmentado que parecen haberse fusionado a una zona del ecuador del epitelio anterior. (figura 4)

La córnea presenta una morfología atípica al compararla con la del ojo derecho; además está parcialmente fusionada al epitelio anterior del cristalino. Por este motivo no existe cámara anterior.

El borde del pliegue de retina ciega y epitelio pigmentado tiene una morfología que recuerda al iris. (figura 4)

La retina presenta una estratificación normal, aunque la capa de fibras ópticas es muy fina si la comparamos con la retina contralateral.

La retina ciega y el epitelio pigmentado forman algunos pliegues de escaso tamaño que parecen el esbozo de los procesos ciliares.

En el lado opuesto existe un plegamiento del epitelio pigmentado que hace relieve en el interior del globo ocular. (figuras 4 a 7)

La retina neurosensorial que se sitúa frente al plegamiento del epitelio pigmentado, disminuye de grosor, pierde la estratificación en capas y desaparecen los fotorreceptores. (figuras 5 y 6)

EMBRION O 230

Fig.1: Visión lateral izquierda de la cabeza donde se observa la microftalmía y la distribución de los esbozos pigmentados de plumas. (1x)

Fig.2: Visión craneal donde observamos la asimetría de la cabeza. (1x)

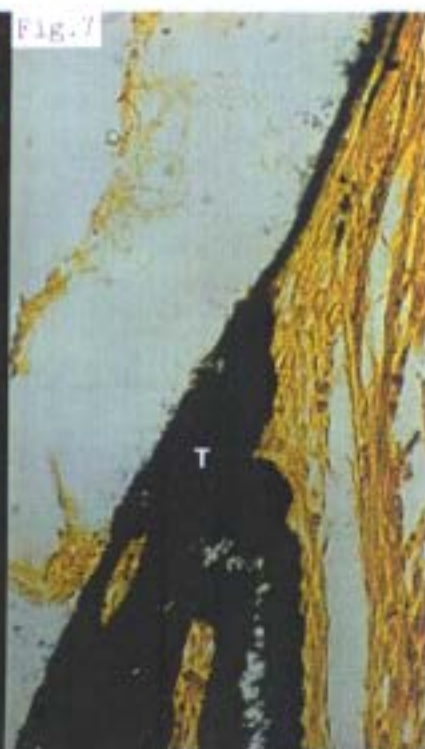
Fig.3: Corte frontal oblicuo que muestra la diferencia de tamaño entre ambos ojos. (BB, 0,8)

Fig.4: Detalle del segmento anterior del ojo microftálmico donde vemos el esbozo de la membrana nictitante y como el cristalino está unido, por su cara interna a un pliegue de retina ciega y epitelio pigmentado, y por su cara externa a la córnea. (BB, 4x)

Fig.5: Detalle del plegamiento del epitelio pigmentado que hace relieve en el interior del globo ocular. (10x)

Fig.6: Detalle de la figura anterior donde vemos la alteración que presenta la retina (perdiendo la capa de fotorreceptores), a nivel del plegamiento del epitelio pigmentado (flecha). (BB, 20x)

Fig.7: Detalle a nivel del inicio de los pliegues del epitelio pigmentado. (BB, 40x)



ABREVIATURAS INJERTOS

AE.....	Artículos externos de los fotorreceptores
BB(V).....	Bielchowsky en bloque (Virado)
BI.....	Pico inferior
BP.....	Pico superior pigmentado
C.....	Córnea o esbozo
CA.....	Cámara anterior o esbozo
CC.....	Cajal-Castro
CI.....	Procesos ciliares
Cl.....	Cámara cristaliniana
CO.....	Coroides
CR.....	<i>Pars ciliaris retinae</i>
D.....	Diamante del pico
E.....	Esclera. Cartilago escleral
EA.....	Epitelio anterior del cristalino
ED.....	Ectodermo del injerto
EDP.....	Ectodermo del receptor
EN.....	Endotelio corneal o esbozo
EP.....	Epitelio corneal o esbozo
ES.....	Estrato acelular o estroma corneal
F.....	Fibras ópticas
F1.....	Fibras primarias del cristalino
F2.....	Fibras secundarias del cristalino
FE.....	Feulgen
FR.....	Fotorreceptores
G.....	Ecuador del cristalino
GA.....	Células ganglionares
GO.....	Globo ocular del injerto
GOP.....	Globo ocular del receptor
HC.....	Hematoxilina de Carazzi
I.....	Iris o esbozo
J.....	Injerto
L.....	Cristalino o esbozo
MD.....	Mesodermo del injerto
MN.....	Membrana nictitante
MO.....	Músculos oculares extrínsecos
MP.....	Mesodermo del receptor
NO.....	Fascículo óptico
NV.....	Estructura nerviosa
P.....	Pecten
PI.....	Estructura compatible con pico
PO.....	Pedículo óptico
PPR.....	<i>Pars plana retinae</i>
R.....	Retina del injerto
RE.....	Retina externa del injerto
RI.....	Retina interna del injerto
RN.....	Retina transformada del epitelio pigmentado.
RP.....	Retina del receptor
SM.....	Sevier-Munger
T.....	Epitelio pigmentado del injerto

TP.....Epitelio pigmentado del receptor
TR.....*Pars terminalis retinae*
V.....Cuerpo vítreo
VO.....Ventrículo óptico

DISCUSSION

1. EMBRION DE CODORNIZ

En primer lugar vamos a comentar las diferencias que existen entre nuestro trabajo y el de ZACCHEI (1961), en cuanto al desarrollo del órgano de la visión. Sólo podemos comparar con ella los aspectos macroscópicos.

Antes creemos que es necesario mencionar lo que pensamos puede ser una errata del trabajo de ZACCHEI.

En el Estadio (E) 27 Z, esta autora afirma que el pico mide entre 2,1 y 2,2 mm., igual o inferior al estadio 26 Z (2,2 mm.); sin embargo, en todos los embriones control del estadio 27 Z estudiados por nosotros, la longitud del pico osciló entre 2,3 y 2,4 mm.

Nosotros observamos el primer esbozo de la placoda cristaliniana en el estadio 10 Z (16 somitos) y ZACCHEI en el 11 Z (19 somitos).

ZACCHEI no distingue la invaginación de la vesícula óptica primaria y de la placoda cristaliniana hasta el E: 13 Z (24-26 somitos); aunque nosotros la hemos visto en el E: 12 Z (22 somitos).

En nuestros embriones los primeros indicios de pigmentación macro (por el efecto de aposición) y microscópica, aparecen en el E: 16 Z; sin embargo, ZACCHEI afirma que se inicia en el E: 15 Z y hasta el 18 Z no se observa nítidamente a simple vista.

Para ZACCHEI, los primeros esbozos de las papilas esclerales se distinguen en el E: 21 Z y para nosotros en el 22 Z.

Finalmente los párpados se cierran completamente en el E: 30 Z (ZACCHEI) y en el 31 Z en nuestra serie.

Si tenemos en cuenta que nuestros embriones han sido datados según los criterios de ZACCHEI, la mayor discrepancia, aunque no es importante, está relacionada con el inicio de la pigmentación ocular.

Queremos destacar aquí que las únicas referencias microscópicas encontradas sobre el embrión de codorniz, son de JIMENEZ COLLADO y cols. (1978) y tratan sobre la aparición de los primeros pliegues de los procesos ciliares. Estos autores los sitúan en el 6º día de incubación, que según ZACCHEI corresponde al estadio 22 Z; sin embargo, nosotros no hemos encontrado ningún pliegue hasta el estadio 24 Z (7 días de incubación).

Un capítulo interesante en este apartado es conocer las diferencias que existen entre el desarrollo del embrión de pollo y de codorniz.

Guiandonos por el trabajo de ZACCHEI (1961) que equipara los estadios de ambas especies (Tabla 1), si bien esta autora no hace referencia a los aspectos microscópicos de las estructuras oculares; vamos a comparar el desarrollo de las estructuras oculares más importantes insistiendo únicamente en las que presenten algún "desfase", ya sea a favor o en contra.

En nuestra exposición referiremos los datos morfológicos al estadio de pollo según HH y a continuación pondremos, entre paréntesis (->), el estadio que le correspondería según la Tabla 1.

TABLA 1

CODORNIZ (2).....POLLO (HH)

1.....	3+
2.....	4
3.....	5
4.....	6
5.....	7
6.....	8
7.....	9
8.....	10
9.....	11
10.....	12
11.....	13
12.....	14
13.....	15-16
14.....	16-18
15.....	19-20
16.....	21-22
17.....	23-24
18.....	25
19.....	26
20.....	27-28
21.....	29
22.....	30-31
23.....	32-34
24.....	35
25.....	36-37
26.....	38
27.....	39
28.....	40
29.....	41-42
30.....	43
31.....	44
32.....	45
33.....	46

Tomada de ZACCHEI (1961).

En el embrión de pollo en ventrículo óptico se oblitera en el estadio 17 HH (-> 14 Z); sin embargo, en nuestros embriones control de codorniz no desaparece hasta los estadios 15 y 16 Z, incluso quedan restos del ventrículo óptico en los bordes de la vesícula óptica.

Con las técnicas histológicas empleadas no es posible realizar el estudio exhaustivo de la estratificación en capas de la retina. Utilizando Hematoxilina de Carazzi observamos una fina capa de fibras ópticas en el estadio 18 Z, cuando debería verse entre los estadios 14 y 16 Z si nos guiamos por las equivalencias con el embrión de pollo.

En los controles de codorniz distinguimos todas las capas de la retina en el estadio 24 Z; mientras que en el pollo esta característica se aprecia en el E: 36 HH (-> 25 Z).

Hasta el E: 16 Z no observamos los primeros granos de pigmento en la capa externa de la vesícula óptica. En el embrión de pollo están descritos en los E: 18 y 19 HH (-> 14 y 15 Z). Macroscópicamente no existen diferencias. También en ambas especies, la pigmentación se inicia en la zona central y avanza hacia los bordes de la vesícula óptica; lo contrario que en el gorrión (SLONAKER, 1921).

En el embrión de pollo las primeras células que entran en la cavidad ocular acompañando a la arteria *cupulae opticae* (esbozo del pecten), se distinguen entre los estadios 26 HH (-> 19 Z) para SZILY (1922) y ROMANOFF (1960) y 28 HH (-> 20' Z) para O'RAHILLY y MEYER (1955). Nosotros en el embrión de codorniz lo localizamos en el estadio 17 Z. Sin embargo, los primeros pliegues del pecten se observan antes en el embrión

de pollo (35 HH -> 24 Z) que en el de codorniz (26 Z).

En el E: 40 HH (-> 28 Z), el pecten del pollo está completamente pigmentado y presenta un desarrollo histológico semejante al del animal adulto. En el embrión de codorniz el desarrollo se completa entre los estadios 28 y 30 Z.

Las distintas fases del desarrollo y diferenciación del cristalino (formación de la placoda, fosa y vesícula cristaliniana; desaparición de la luz y degeneración de los núcleos de las fibras) coinciden en los embriones de pollo y codorniz según las equivalencias expuestas en la Tabla 1.

En la córnea hemos encontrado pequeñas diferencias.

Las oleadas mesodérmicas con la formación del endotelio y del estroma, la aparición de la cámara anterior y el cambio de curvatura de la córnea en relación al resto del globo ocular, coinciden en ambas especies.

Respecto a las membranas de Bowman y de Descemet existen discrepancias, pues con microscopía óptica, en el embrión de pollo la membrana de Bowman se distingue en el E: 37 HH (-> 25 Z) y la membrana de Descemet en el E: 38 HH (-> 26 Z). Sin embargo, nosotros hemos observado por primera vez en el estadio 23 Z la presencia de unas líneas densas que identificamos como membranas de Bowman y Descemet.

En el embrión de pollo los primeros pliegues de los procesos ciliares aparecen, según los autores, entre los E: 28-30 HH (-> 20-22 Z) para NUSSBAUM (1901) y ORTS LLORCA (1975); 33-34 HH (-> 23 Z) para LEWIS (1903); y a partir del E: 35 HH (-> 24 Z) para COULOMBRE (1956b). Nuestras observaciones determinan que los pliegues de los procesos

ciliares en el embrión de codorniz se distinguen en el E: 24 Z; aunque ya comentamos que JIMENEZ COLLADO y cols. (1978) los observan en el 6º día de incubación (22 Z).

2. INJERTOS. GENERALIDADES

Antes de pasar a la discusión de los resultados obtenidos en los injertos, es necesario hacer una breve referencia a varios factores relacionados con la técnica quirúrgica como el método, condiciones de éxito, supervivencia o mortalidad y retraso en el desarrollo de los injertos.

Son muy pocos los autores que realizan injertos de vesícula óptica entre diferentes especies de aves, McKEEHAN (1951) utiliza embriones de pollo y pato y PUCHADES ORTS y JIMENEZ COLLADO (1973), JIMENEZ COLLADO y cols. (1978, 1981 y 1983) y PUERTA FONOLLA y cols. (1984), embriones de pollo y codorniz.

Por la similitud con los Métodos A y B, queremos destacar los trabajos de BOYDSTON y SOHAL (1979a y b); pues aunque utilizan embriones de pollo, sitúan los injertos junto a la vesícula óptica derecha del receptor.

En la bibliografía hemos encontrado muy pocas referencias sobre los porcentajes de éxito y menos aún de las condiciones que deben cumplirse para ser consideradas como tal.

El éxito es un parámetro que varía con cada autor y con la finalidad de sus trabajos.

Así, ALEXANDER (1937) obtiene un 90% de éxitos, pues únicamente considera el desarrollo de tejido ocular en el lugar del injerto.

Sin embargo, como BOYDSTON y SOHAL (1979a y b) necesitan que las vesículas ópticas injertadas estén incluidas en la órbita derecha del receptor, que tengan movimiento ocular, que alcancen un tamaño normal y que exista una buena

diferenciación histológica de retina y cristalino, sólo obtienen un 8% de éxitos.

Excepto algún caso, nosotros hemos incluido en los resultados todos aquellos embriones quimera donde macro y microscópicamente pudimos observar el desarrollo de varias estructuras oculares procedentes del injerto de codorniz. Por supuesto, a lo largo del trabajo experimental encontramos un gran número de embriones que macroscópicamente cumplían esta condición, pero que no era posible su proceso histológico por el estado de maceración que presentaban los tejidos.

Si consideramos únicamente los embriones utilizados en los resultados, vemos que hemos obtenido un porcentaje global de éxito del 6,3% (10% en el Método A; 4,3% en el B y 4,6% en el C).

Aunque no guarda relación directa con el presente trabajo queremos destacar que HEATON (1973), realizando heterotransplantes homotópicos de vesícula óptica obtiene un 78% de incorporaciones al receptor. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la mortalidad oscila entre el 43% y el 82% según el tiempo que se considere tras la cirugía.

No hemos encontrado cifras sobre la supervivencia o mortalidad de los injertos. Por este motivo vamos a tomar como referencia los trabajos sobre transplantes.

Estamos de acuerdo con MARTINOVITCH y PAVLOVIC (1958) y MARTINOVITCH (1958), cuando afirman que la mortalidad de sus embriones se debe a la delicada estructura que manejan. Estos autores, como nosotros en el Método C, manipulan el cerebro anterior.

Coincidimos plenamente con HEATON (1973), cuando concluye que las causas de la alta mortalidad de sus heterotransplantes homotópicos son el trauma quirúrgico, la alteración de la integridad del embrión y la apertura del huevo que dificulta los giros normales, disminuyendo la viabilidad de los embriones, sobre todo de los más desarrollados.

Nosotros creemos que para completar las causas de mortalidad, es necesario añadir el riesgo de infección y el conflicto de espacio que crean los injertos dentro del receptor. Así en el Método C, al gran crecimiento que experimentan las vesículas ópticas se añade la importancia vital de la zona receptiva; es decir, del sistema nervioso central.

Para finalizar, queremos mencionar que estamos de acuerdo con los autores que afirman sobre la existencia de un retraso en el desarrollo y crecimiento, tanto de los transplantes (MARTINOVITCH y PAVLOVIC, 1958; MARTINOVITCH, 1958) como de los injertos (JIMENEZ COLLADO y cols, 1978), en relación al estadio teórico que deberían alcanzar.

El retraso en el desarrollo de las distintas estructuras que pertenecen al injerto, se debe al periodo de latencia originado por la intervención, unido al tiempo que transcurre hasta que se normaliza de nuevo el desarrollo. En los embriones muertos *in ovo*, el retraso es mayor ya que es necesario añadir el intervalo que va desde la muerte hasta la fijación. En nuestros resultados, este periodo está incluido dentro del tiempo de reincubación.

2.1. METODO A

Para el estudio del Método A, hemos escogido 9 embriones vivos y 1 embrión muerto no macerado (O-77), donde el injerto prendió y se desarrolló.

Todas las vesículas ópticas, excepto la del O-20, se han desarrollado en la parte supero-dorsal o dorsal del globo ocular derecho del embrión receptor. Aquellos que han sobrevivido más tiempo (12 días), el injerto aparece cubierto parcial o totalmente por la piel y los párpados.

No hemos incluido los embriones macerados ni los que a pesar de estar vivos el injerto había prendido, éste no se había desarrollado.

Vamos a estudiar cada estructura en todos los embriones, viendo en conjunto las características comunes y especiales que presentan.

2.1.1. CORNEA

La córnea se ha diferenciado en todos los casos, excepto en dos (O-45 y O-77).

Normalmente, el grado de desarrollo de la córnea guarda relación con el estadio teórico alcanzado, si lo comparamos con el de los embriones control; pero existen dos casos donde esto no se cumple, uno por defecto (O-8) y otro por exceso (O-15).

El esbozo corneal del embrión O-8, presenta una sola capa que corresponde al epitelio; aunque según el estadio teórico alcanzado, debería tener dos capas (epitelio y endotelio)

separadas por el estrato acelular. Periféricamente se une, sin solución de continuidad, con el ectodermo del receptor en unas zonas (figuras 4, 6, 12 y 13) y con la retina externa del injerto en otras (figuras 4 a 6 y 11a a 11c).

El aspecto del epitelio corneal en el embrión 0-8 (figura 10) es muy parecido al del embrión control del estadio 16 (figura 4).

El retraso en el desarrollo corneal puede explicarse por dos motivos; en primer lugar, la ausencia de mesodermo en gran parte de la periferia corneal (figura 5), impide o dificulta que se realice la primera oleada mesodérmica (esbozo del endotelio). El otro motivo se basa en que el epitelio anterior del cristalino y sobre todo la zona central, influye en el desarrollo y estratificación normal de la córnea (GENIS GALVEZ, 1966). Este autor demostró que la córnea detiene su desarrollo cuando se rota el cristalino 180° en el interior de la vesícula óptica; es decir, cuando se impide la relación normal entre el epitelio anterior del cristalino y el esbozo corneal. Así el desarrollo de la córnea continúa solamente cuando el cristalino se reestructura; o lo que es igual, cuando las fibras se transforman en epitelio anterior y el epitelio anterior en fibras.

En el embrión 0-8, el esbozo corneal tiene mayor relación con las regiones ecuatorial y preecuatorial (figuras 5 y 11d) que con la zona central del epitelio anterior (figura 10). Esto, unido a que en la mayor parte del injerto la pared de la vesícula óptica se interpone entre la córnea y el cristalino (figuras 6 y 11a a 11c), puede explicar el retraso en el

desarrollo corneal.

A pesar de la ausencia de endotelio, el espacio ópticamente vacío limitado por el esbozo corneal, el cristalino y los bordes de la vesícula óptica, pensamos que corresponde al esbozo de la cámara anterior (figuras 5 y 11d)

En la zona central de la córnea del embrión 0-15, se observa el estroma corneal (figura 6) aunque, según el estadio teórico alcanzado (20 Z), no debería existir pues no tendría que haberse producido la segunda oleada mesodérmica. Es decir, que el desarrollo de la córnea se ha adelantado y se parece más al estadio 21 Z (figura 5) o 22 Z (figura 4).

El embrión receptor ha alcanzado el estadio 33 HH y sus córneas presentan tres capas celulares perfectamente delimitadas.

Las tres capas de la córnea del embrión 0-15 derivan del receptor, pues el epitelio se continúa periféricamente con el ectodermo superficial del receptor y el estroma y endotelio con el mesodermo del receptor.

Si la córnea deriva de los tejidos del receptor, puede estar más influenciada por su origen que por su situación y no tiene porque seguir el desarrollo cronológico del injerto. Esto podría explicar el grado más avanzado de diferenciación corneal (JIMENEZ COLLADO y cols., 1978).

Vamos a referirnos ahora a los dos embriones quimera donde no se ha desarrollado ninguna estructura que corresponda a la córnea (0-45 y 0-77).

Ambos comparten una característica común; prácticamente todo el injerto está rodeado por la retina y/o por el epitelio pigmentado (O-45, figuras 3 y 8a a 8f; O-77, figuras 4 a 6). Es decir, entre el cristalino y el ectodermo se sitúa la pared de la vesícula óptica.

La extirpación del cristalino en estadios precoces del desarrollo detiene la histogénesis normal de la córnea (GENIS GALVEZ y cols., 1969). Cuando se extirpa en estadios más avanzados, la córnea pierde progresivamente su estructura (COULOMBRE, 1965); es decir, la influencia del cristalino sobre la morfogénesis corneal no es puntual, sino que se realiza durante un largo periodo del desarrollo embrionario.

Por lo tanto, si se impide desde el principio la relación normal entre el cristalino y el ectodermo superficial (primordio de la córnea), no se diferenciará la córnea. En estos casos, podemos equiparar la extirpación del cristalino con la existencia de una barrera (la pared de la vesícula óptica) entre cristalino y ectodermo.

En otros experimentos de GENIS GALVEZ y cols. (1967), encaminados a esclarecer la existencia de "regeneración de WOLFF" del cristalino en embriones de ave (pollo), observaron que en los casos donde se regeneraba cristalino a partir de los bordes de la vesícula óptica, sobre todo a partir del epitelio pigmentado, únicamente se formaba cámara anterior delante de aquellas zonas del cristalino que habían perdido completamente el pigmento. Y la cámara anterior es fundamental en la diferenciación del endotelio y la membrana de Bowman (HAGEDOORN, 1928; COULOMBRE, 1965).

En el embrión O-45 existe otro detalle no menos importante que los anteriores y que podría explicar por sí solo la ausencia del esbozo corneal. El cristalino está orientado hacia el interior del injerto (figuras 3, 8b y 8c) y como ya hemos comentado, cuando el cristalino se gira 180° en el interior de la vesícula óptica, la córnea detiene su desarrollo hasta que se reestructura el cristalino (GENIS GALVEZ, 1966). Es decir, las pocas zonas donde no existe una barrera entre cristalino y ectodermo este último no recibe la influencia del epitelio anterior, sino de las fibras cristalinianas que no participan en la morfogénesis corneal.

Tres embriones quimera (O-35, O-37 y O-10) presentan parecido desarrollo en relación al esbozo de la cámara anterior y de la córnea. Todos muestran el epitelio y endotelio separados por el estrato acelular.

En relación al origen de cada una, también existen coincidencias entre ellos.

El esbozo del epitelio corneal tiene una o dos hileras de células cúbicas que se continúan periféricamente con el ectodermo superficial del embrión receptor (O-35, figura 3; O-37, figura 4 a 7; O-10, figura 6). Con la tinción de Feulgen (O-35 y O-37) prácticamente no se observan células con nucleolos evidentes. Aunque el embrión O-10 está teñido con Bielchowsky en bloque y no se puede constatar este detalle, es significativa la relación entre el epitelio y el ectodermo.

Si al estudiar el esbozo endotelial seguimos los esquemas de los embriones O-35 y O-37 así como sus figuras correspondientes, vemos que no existe ninguna duda sobre el origen de esta estructura, ya que deriva del mesodermo del injerto.

En el embrión O-10 no se puede afirmar categóricamente el origen del endotelio; pero si tenemos en cuenta lo visto en los casos anteriores y que el mesodermo de donde surge el endotelio (el que recubre los bordes de la vesícula óptica, figuras 4 y 6) es más denso que el resto; sí podemos incluirlo con los dos embriones teñidos con Feulgen.

La causa de que el esbozo epitelial derive del embrión receptor, se debe a que las vesículas ópticas se injertan entre los estadios 10 y 11 Z (estadio de placoda cristaliniana). Durante el desarrollo del injerto en el embrión quimera, la placoda se transforma en fosa y ésta en vesícula. Esto provoca que el ectodermo injertado se utilice en la formación del esbozo cristaliniano; en el proceso de invaginación y cierre es muy probable que en las zonas periféricas de estas estructuras participe el ectodermo del receptor.

A continuación vamos a comentar las córneas de los tres últimos embriones (O-39, O-20 y O-88).

La córnea del embrión O-39 presenta diferentes grados de desarrollo; por eso la hemos dividido en tres partes (figura 11).

En la zona 1, que corresponde a la de mayor grosor de la córnea, se observan las tres capas celulares típicas del estadio teórico alcanzado por el injerto (21 Z). Es decir, se está iniciando la segunda oleada mesodérmica con células procedentes del tejido mesodérmico que rodea el borde de la vesícula óptica y que pertenece al injerto (con nucleolos evidentes). Estas células se introducen entre el epitelio y el endotelio para formar el estroma.

El endotelio (capa interna) presenta una hilera de células planas, también con nucleolos evidentes, pues deriva del mismo mesodermo. Sin embargo, el epitelio (capa externa) se continúa con el ectodermo del receptor y en sus células no se observan los nucleolos.

En la periferia de la zona 2 existen dos capas celulares, el epitelio y por debajo se inicia la formación del endotelio (como en el estadio control 17 Z); pero en las células de esta primera oleada mesodérmica no se observan los nucleolos pues el mesodermo pertenece al receptor.

Finalmente en la zona 3 sólo hay una capa celular que corresponde al epitelio; es decir, por su aspecto morfológico corresponde al estadio control 16 Z.

Como hemos podido ver el estadio teórico (21 Z) únicamente se cumple en la zona 1.

El retraso en el desarrollo del resto de la córnea puede ser debido, en primer lugar al íntimo contacto que existe entre la región preecuatorial del epitelio anterior del cristalino y el epitelio corneal en la zona 2. Esto dificultaría físicamente la entrada de células mesodérmicas

entre ambas estructuras e impediría la formación normal del endotelio. Y en segundo lugar, puede deberse a que el mesodermo pertenece al receptor y no al injerto.

Si admitimos que la causa del retraso en la morfogénesis corneal se debe a este último motivo, podemos pensar que existe una relación especie-específica entre ambas especies similar a la que describen JIMENEZ COLLADO y cols. (1981 y 1983) con relación a la afinidad que tienen las fibras ópticas del nervio óptico de codorniz por el mesencéfalo de su misma especie.

Aunque no podemos descartar completamente esta explicación, hay que tener en cuenta el contacto entre cristalino y epitelio corneal. Además en los embriones quimera O-35, O-37 y O-10, hemos visto que en el esbozo corneal el epitelio pertenece al receptor y el endotelio al injerto. Por lo tanto en esos casos no podemos hablar de relación especie-específica en la córnea.

En el embrión O-20 la estructura que hemos identificado como la córnea (figuras 4 y 5) tiene una morfología parecida a las córneas de los estadios control 21 (figura 5) y 22 Z (figuras 4 y 5), aunque algo desestructurada, pues no existe una clara delimitación del estroma con el epitelio y el endotelio.

El esbozo de la cámara anterior es una pequeña franja ópticamente vacía entre la córnea y el cristalino. Una de las causas que ha podido contribuir a ello es la escasa cantidad de mesodermo que existe en el injerto.

Es normal que cuando se explica el desarrollo de la córnea, se haga en base a un globo ocular que se encuentra formando parte de un todo, que es el embrión.

Así para que disminuya el radio de curvatura corneal y por lo tanto para un buen desarrollo corneal, es necesario (dejando aparte interacciones, inducciones, etc...) que aumente la presión intraocular y que se condrifique el anillo cartilaginoso situado en el limbo córneo-escleral (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE, 1957; COULOMBRE y C, 1958 y 1961; O'RAHILLY, 1962). Nosotros hemos observado que en el embrión de codorniz esta modificación del radio aparece entre los estadios 23 y 24 Z.

Pero, ¿qué ocurre en los estadios anteriores con la presión intraocular y la comprensión de los tejidos perioculares?; simplemente que ambos factores están compensados, lo que contribuye al normal desarrollo de la córnea.

Si aislamos el globo ocular del armazón que representan las estructuras perioculares, modificamos las condiciones normales. Esto es lo que de forma casual ha ocurrido con el injerto en el embrión quimera O-20.

Nosotros pensamos que uno de los factores que ha contribuido a la desestructuración corneal es el crecimiento del injerto, sin compresiones de los tejidos externos.

La presión intraocular que en condiciones normales existe durante el desarrollo, repercute más sobre la córnea porque es la única formación que no está protegida por ninguna estructura. En nuestro caso la presión se aplica por igual

sobre toda la esfera del globo ocular, con lo que disminuye la que se ejerce sobre la córnea.

En el embrión O-88, algunas zonas del epitelio anterior del cristalino están en íntimo contacto con parte de la superficie interna de la córnea. A ese nivel no se identifica el endotelio corneal; además en esas zonas el estroma y el endotelio están alterados (figura 5).

El estroma alterado presenta un gran espesor, a expensas sobre todo de la mitad externa donde existen numerosas vacuolas ópticamente vacías. El epitelio aparece desestructurado y parcialmente desprendido.

El aspecto microscópico de esta zona coincide con el de un edema corneal por lesión endotelial.

La córnea sana tiene un aspecto homogéneo en todas las capas. En el estroma no se observa la banda densa central, aunque en el tercio externo existe mayor concentración de queratocitos. La morfología en esta zona es similar a la que presenta la córnea del estadio control 31 Z (figura 3).

Todas las características que observamos en la córnea desestructurada indican que la zona de contacto con el cristalino no son artefactos debidos a la técnica histológica; pues la morfología de las alteraciones y la ausencia de endotelio señalan que la fusión entre ambas estructuras se realizó en los estadios anteriores al que presenta en el momento de la fijación.

2.1.2. CRISTALINO

En todos los embriones se ha diferenciado un cristalino más o menos desarrollado. Normalmente el grado de desarrollo coincide o está ligeramente retrasado, en relación a los estadios teóricos que deberían haberse alcanzado.

A causa de que los cristalinos presentan detalles particulares y comunes a otros, no podemos hacer una división clara para su estudio. Sin embargo, hay dos embriones (O-45 y O-8) donde existe una relación especial entre las capas de la vesícula óptica y el cristalino. Por esta razón comenzamos con ellos.

Cuando hablamos del embrión O-45, ya comentamos la ausencia de córnea y cámara anterior; además la mayor parte del injerto está rodeado por el epitelio pigmentado.

El grado de diferenciación del cristalino no se corresponde con el estadio teórico que debería haberse obtenido. Se observan varias alteraciones en el desarrollo de las fibras y del epitelio anterior.

En el interior existen áreas completamente desestructuradas (vacuolas), que provocan una desorganización de las fibras primarias y secundarias; además sus núcleos aún son visibles (figuras 3, 8b y 8c). También queda algún resto de la cámara cristaliniana (figura 8b).

En algunas zonas el epitelio anterior rodea en más de las tres cuartas partes la circunferencia del cristalino (figura 8b). Normalmente el epitelio anterior acompaña al epitelio pigmentado.

Por el contrario en las zonas donde la retina contacta con el cristalino se han diferenciado fibras (figuras 8d y 8f).

ALEXANDER (1937) y AMPRINO (1949b), demostraron que el epitelio pigmentado puede inducir la formación del cristalino, pero es incapaz de continuar su diferenciación. Esta característica puede justificar no sólo el retraso en el desarrollo, sino también la desestructuración del núcleo cristaliniano.

Cuando el esbozo cristaliniano está rodeado de retina se transforma completamente en fibras (LOPASHOV, 1960; REYER, 1962).

Similares resultados obtienen en embriones de pollo GENIS GALVEZ (1966) y GENIS GALVEZ y cols. (1967), al rotar 180° el esbozo del cristalino dentro de la vesícula óptica (*in ovo*); pues las zonas que se ponen en contacto con la retina se transforman en fibras. Por lo tanto nuestros resultados concuerdan con los de estos autores.

El cristalino del embrión O-45 presenta otras características. El epitelio anterior está parcialmente pigmentado pues se une, sin solución de continuidad, con el epitelio pigmentado (figuras 3 y 8c a 8f). Al mismo tiempo el cristalino adopta una morfología bilobulada. El lóbulo más interno se une, sin solución de continuidad, con la retina (figuras 8d a 8f) que a ese nivel no se ha desarrollado entre el cristalino y el epitelio pigmentado (figuras 3 y 8a a 8d).

Han sido muchos los experimentos realizados para aclarar la existencia de regeneración de WOLFF del cristalino; es decir, la formación del cristalino a partir de los bordes de

la vesícula óptica.

Actualmente, en anfibios, no hay dudas sobre la regeneración de WOLFF (REYER, 1950; EGUCHI, 1967; STONE, 1967; YAMADA y cols., 1973). Sin embargo, en embriones de ave los trabajos son más escasos y hay discrepancias sobre la existencia de este fenómeno.

Las primeras descripciones de la regeneración de WOLFF en embriones de pollo fueron realizadas por BARFURTH y DRAGENDORFF (1902).

ALEXANDER (1937), obtiene fibras cristalinianas a partir del epitelio pigmentado y del borde del iris, pero observa que es necesaria la presencia del ectodermo. Por el contrario, DORRIS (1938a) en cultivos de vesícula óptica, obtiene fibras cristalinianas en ausencia de ectodermo.

VAN DETH (1940), afirma que en el embrión de pollo existe regeneración de WOLFF. Pero fué GENIS GALVEZ (1962) quien tras realizar numerosos experimentos de extirpación del esbozo cristaliniano entre los estadios 13 a 17 HH, obtiene cristalinios morfológica y funcionalmente normales, aunque ligeramente más pequeños.

Sin embargo, McKEEHAN (1961) con similares experimentos, pero utilizando embriones entre los estadios 18 a 23 HH, no observa regeneración de WOLFF en ningún caso.

Han sido varios los investigadores que han puesto en duda, no los resultados de estos experimentos, sino la interpretación que se ha hecho de ellos (ORTS LLORCA, 1975).

La morfología y estructura del cristalino desarrollado en el embrión O-45, indica que al menos una parte deriva de los bordes de la vesícula óptica.

Los trabajos de McKEEHAN (1961) y GENIS GALVEZ (1962), parecen insinuar la existencia de un límite (E: 18 HH), a partir del cual la regeneración de WOLFF es imposible.

Las vesículas ópticas injertadas por nosotros se encuentran entre los estadios 10 y 13 Z (12-16 HH, según ZACCHEI, 1961) y en el caso concreto que nos ocupa (O-45) pertenece al estadio 10+ Z (12+ HH); por lo tanto es más "joven" aún que los utilizados por GENIS GALVEZ.

Es decir, los bordes de la vesícula óptica injertada en el embrión O-45, al estar menos diferenciada deben tener mayor capacidad de transformación (de diferenciación).

Por último, las relaciones específicas entre estructuras concretas de la vesícula óptica y del cristalino parecen demostrar que el epitelio anterior deriva del epitelio pigmentado y que las fibras cristalinianas derivan de la retina.

El cristalino del embrión O-8 presenta un gran tamaño (figuras 11b y 11c) si lo comparamos con el estadio control 18 Z (figura 4).

Lo primero que destaca es la relación tan estrecha que existe entre gran parte de la circunferencia cristaliniana y la retina interna. (figuras 6 y 11a a 11d). Entre ambas estructuras no existe solución de continuidad.

Esta unión se mantiene desde que comenzamos a observar el cristalino (figura 11a) hasta que desaparece (figura 11d); aunque el mayor contacto se aprecia en los cortes donde el cristalino es más voluminoso (figuras 11b y 11c). A ese nivel, el proceso histológico retrae los tejidos y la retina se desgarrá, por lo que más que un contacto es un desarrollo común.

Si analizamos estos detalles, debemos pensar que el cristalino deriva de la retina que se ha desarrollado dentro del receptor. Es decir, probablemente estemos ante otro caso de regeneración de WOLFF.

Vemos que los núcleos de las fibras se disponen en forma de "media luna"; pero están muy cerca del epitelio anterior. Esta situación especial de los núcleos no la hemos observado en ningún embrión control, pues normalmente se mantienen en la zona media hasta que degeneran y desaparecen.

Si estudiamos con detenimiento estos detalles encontramos que guardan una relación directa.

Cuando la retina está fuertemente unida a la superficie interna del cristalino, los núcleos se alejan más de esa zona y se acercan al epitelio anterior (figuras 6, 11b y 11c). Sin embargo, cuando la relación entre ambas estructuras es mínima (figura 5), los núcleos no están tan cerca del epitelio anterior.

En las zonas donde la retina también está unida al epitelio anterior (figura 11c), éste disminuye de forma importante su espesor.

También hemos observado que en las zonas de mayor contacto entre la retina y la superficie posterior del cristalino (figuras 6, 11b y 11c), aparece una vacuola "polar posterior".

Al estudiar el embrión O-45, ya mencionamos los trabajos de LOPASHOV (1960) y REYER (1962) en anfibios y de GENIS GALVEZ (1966) y GENIS GALVEZ y cols. (1967) en embriones de pollo, donde se demostraba que la retina induce la diferenciación de las fibras cristalinianas, incluso a partir del epitelio anterior (cuando ambas se ponen en contacto).

Esto justifica que el epitelio anterior disminuya de grosor cuando la retina contacta con él (figura 11c).

La única explicación que encontramos para que los núcleos de las fibras estén tan cerca del epitelio anterior, se basa precisamente en el contacto entre la retina y la superficie posterior del cristalino.

En condiciones normales (embriones control), la retina induce la diferenciación de las fibras, pero esa acción se ejerce a distancia; pues entre ambas estructuras se encuentra el esbozo del cuerpo vítreo. Sin embargo, en este embrión no se interpone nada entre ellas.

En el embrión O-35, el cristalino (figura 3) ha alcanzado un tamaño y grado de desarrollo similar al estadio teórico 19 2 (figura 4).

El epitelio anterior se engruesa en las regiones ecuatorial y preecuatorial. Los núcleos de las fibras presentan la forma de "media luna".

Pero en una zona del ecuador, el borde de la vesícula óptica se sitúa detrás del cristalino y en contacto con él.

En ese punto los núcleos de las fibras se alejan de la superficie cristaliniana y se introducen en el interior adoptando una forma de "media luna", pero a menor escala. Los núcleos desplazados comprimen el epitelio anterior que a ese nivel disminuye de grosor.

Aunque de forma localizada, podríamos comparar la zona de contacto entre el borde de la vesícula óptica y el cristalino con la que observábamos en el embrión O-8. Vemos que guardan una similitud; es decir, la capa interna de la vesícula óptica (retina) no sólo induce la diferenciación de las fibras cristalinianas, sino que también parece "repeler" los núcleos de las fibras.

El cristalino del embrión O-77 no está incluido dentro de la cavidad vítrea, se ha desarrollado entre la retina y el epitelio pigmentado (figuras 4 y 5). El grado de diferenciación coincide en general con el estadio teórico (30 Z) que debería haber alcanzado (figura 3), aunque es ligeramente más pequeño.

En algunas zonas el epitelio pigmentado se relaciona con el epitelio anterior, que además rodea gran parte de la circunferencia cristaliniana.

Las deformidades que observamos se deben a la muerte del embrión *in ovo*, lo que provocó alteración de los tejidos.

En el embrión O-37, el cristalino (figura 5) presenta un desarrollo más parecido al estadio 19 Z (figura 4) que al 21 Z (figura 6) que debería haber alcanzado.

En algunas zonas la retina ciega está en contacto con la región ecuatorial del epitelio anterior y con la cápsula posterior.

En cortes periféricos (figura 13) el cristalino se relaciona con la retina y sobre todo con el epitelio pigmentado; pero no hemos observado que esta circunstancia modifique o altere el desarrollo del cristalino.

En el embrión O-20 se conjugan una serie de detalles que le otorgan un carácter especial.

El cristalino (figura 3) ha alcanzado un grado de desarrollo similar a los estadios control 18-19 Z (figuras 4 en ambos) y presenta una forma redondeada, casi esférica.

En él se distinguen perfectamente, el epitelio anterior ligeramente engrosado en el ecuador y las fibras cristalinianas con los núcleos situados en forma de "media luna". Sin embargo, la delimitación entre cada estructura (epitelio y fibras) no es tan nítida (figuras 4 y 5) como en los embriones control (18 Z, figura 5; 19 Z, figura 4).

Pensamos que el origen de la forma redondeada del cristalino y de la escasa delimitación entre sus estructuras está relacionada con la menor presión que se ejerce sobre él; pues ya se comentó que el crecimiento aislado de la vesícula óptica, provoca que la presión intraocular se reparta por igual en todo el globo ocular.

En algunas zonas, el epitelio anterior del cristalino del embrión O-88 ha crecido en íntimo contacto con la córnea; esto ha provocado que durante el proceso histológico se separe del núcleo cristaliniano (figuras 4 y 5).

El grado de desarrollo coincide con el estadio teórico (30 Z) que debería haber alcanzado (figura 3), aunque de menor tamaño. Sin embargo, la zona central del epitelio anterior presenta un grosor sensiblemente mayor que en el cristalino control.

Las fibras primarias situadas en el centro del núcleo están ligeramente deformadas, pues no muestran el aspecto uniforme que vemos en el embrión control.

Pensamos que el contacto entre cristalino y córnea es el origen de las alteraciones en el epitelio anterior (más grueso) y en las fibras (deformadas).

Hemos agrupado los tres últimos embriones (O-10, O-15 y O-39) para estudiarlos en conjunto, pues presentan un desarrollo normal aunque ligeramente retrasado en relación al estadio teórico que deberían haber alcanzado.

El cristalino del embrión O-10 (figuras 4 y 6) corresponde al estadio 18 Z (figura 4); mientras que el de los embriones O-15 (figuras 2 y 3) y O-39 (figura 5) corresponden al estadio 19 Z (figura 4). Según esto, el retraso en el desarrollo del cristalino ha sido de unas 12 horas en el embrión O-15; 18 horas en el O-10 y 24 horas en el O-39.

2.1.3. RETINA Y EPITELIO PIGMENTADO

En todos los embriones de este método se han diferenciado la retina y el epitelio pigmentado. Como sucede con el resto de las estructuras oculares, presentan una serie de características particulares y otras que son comunes a varios embriones.

Es difícil agrupar los embriones, por lo que en primer lugar vamos a estudiar los más característicos.

A partir de la vesícula óptica injertada en el embrión O-45 se ha desarrollado la retina (ciega y neurosensorial) y el epitelio pigmentado.

Ya vimos que en este embrión la retina estaba ausente en la región más rostral del injerto.

En algunas zonas la retina ciega ha crecido separada del epitelio pigmentado (figuras 5, 8a y 8d a 8f). Este detalle no lo hemos observado en ningún embrión control, salvo en la codorniz de dos días de vida (2+, figura 7).

La retina ciega se continúa con la retina neurosensorial que a veces presenta pliegues. No creemos que estos pliegues tengan su origen en una disminución de la presión intraocular como experimentalmente han descrito algunos autores (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE 1956a; JIMENEZ COLLADO, 1977); pues en el injerto se han desarrollado los procesos ciliares (figura 4, 8g y 8f) y ya comentamos que para su formación es necesario que exista una buena presión intraocular (COULOMBRE, 1956a y 1957).

Por lo tanto, pensamos que estos detalles se deben a las especiales características que presenta el injerto en esa zona del globo ocular.

Prácticamente toda la retina neurosensorial está separada de la capa externa de la vesícula óptica (figuras 2 y 10). Por el aspecto no parece que la causa fundamental sea la retracción de los tejidos (incluido el cuerpo vítreo) por el proceso histológico, como ocurre en los embriones control. Por el contrario creemos que el origen está sobre todo en la transformación del epitelio pigmentado en retina neurosensorial.

La morfología de la retina neurosensorial que deriva de la capa interna de la vesícula óptica varía de unas zonas a otras. Donde existe epitelio pigmentado (figuras 2, 5 a 7, 9 y 10) ha alcanzado un grado de diferenciación similar al del estadio control 21 Z (figura 9), pues sólo podemos identificar con nitidez la capa de fibras ópticas y una mayor concentración de células en la zona central. Esto quiere decir que presenta un menor desarrollo que el estadio teórico que debería haber alcanzado.

Sin embargo, la retina pierde su estructura coincidiendo con el punto de transformación del epitelio pigmentado en retina neurosensorial (o neuroepitelio retiniano), pues observamos gran cantidad de vacuolas (figura 13) y un gran adelgazamiento (figuras 11 y 12).

Ya vimos que la diferenciación y desarrollo de la retina neurosensorial está sujeta a varios factores. En primer lugar la existencia de ectodermo superficial (LOPASHOV, 1960) y el

contacto de la vesícula óptica con ese ectodermo superficial (DORRIS, 1938a; GAYER, 1942). Y en segundo término el soporte del epitelio pigmentado (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE, 1955 y 1956a; FUJISAWA, 1971; FUSISAWA y cols., 1974; JIMENEZ COLLADO, 1977).

Las observaciones de FUJISAWA al injertar células de retina disociadas en corioalantoides demostraban únicamente la ausencia de fotorreceptores (que explicó por la falta del epitelio pigmentado) y las alteraciones de las células ganglionares por no existir un órgano diana a donde dirigirse sus axones.

En el embrión O-45 creemos que en algunas zonas (figura 13), la retina neurosensorial está degenerando tras haber alcanzado un buen desarrollo. Por lo tanto al aspecto histológico se correspondería con una retina que ha perdido el soporte de un epitelio pigmentado normal. Sin embargo, en otras zonas (figuras 11 y 12) parece que el desarrollo de la retina se ha detenido al carecer de un epitelio pigmentado normalmente constituido.

A partir de la capa externa de la vesícula óptica se ha diferenciado el epitelio pigmentado, pero en la mayor parte del injerto esta capa se ha transformado en retina neurosensorial (figuras 2, 6, 7 y 9 a 13).

Sabemos que hasta el estadio 18 HH (36 somitos), ambas capas de la vesícula óptica del embrión de pollo, tienen la facultad de diferenciarse, indistintamente tanto en retina como en epitelio pigmentado (ALEXANDER, 1937; DORRIS, 1938a; REINBOLD, 1958; COULOMBRE y COULOMBRE, 1965). Por otro lado,

ZACCHEI (1961) indicó que el estadio 18 HH de pollo corresponde o equivale al estadio 14+ 2 de codorniz (Tabla 1). Por lo tanto si todos nuestros injertos los obtuvimos de embriones hasta el estadio 13 Z, las vesículas ópticas tienen la posibilidad de presentar aquella característica.

En la zona rostral del globo ocular el epitelio pigmentado forma parte, junto a la *pars ciliaris retinae*, de los procesos ciliares (figuras 4, 8g y 8h) y recubre algunas zonas de la *pars plana retinae* (figuras 3 a 5).

En el punto de transformación, que coincide con la separación del epitelio pigmentado del ojo derecho del embrión receptor (figuras 2, 6, 7 y 9), esta capa pierde bruscamente el pigmento y se engruesa alcanzando a veces un espesor similar (figura 11) al de la retina neurosensorial bien desarrollada (figuras 9 y 10). Sin embargo, no se observa ninguna estratificación en capas, aunque la superficie interna capta más intensamente el colorante (figuras 11 a 13) y en los dos tercios internos existe una mayor densidad celular (figura 10).

No encontramos una explicación clara por la que el epitelio pigmentado se haya transformado en retina neurosensorial.

Para ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a), MURILLO FERROL (1964a) y COULOMBRE y COULOMBRE (1965), la capa interna de la vesícula óptica ejerce una inhibición sobre la capa externa para que ésta no se transforme en retina. En nuestro caso no existe ningún cuerpo extraño ni estructura que se interponga entre ambas capas de la vesícula óptica; simplemente están

separadas por un espacio ópticamente vacío. Además, este detalle no puede justificar la transformación, pues en algunas zonas donde retina y epitelio pigmentado están separadas, éste mantiene íntegras todas sus características (figuras 9 y 10).

Una de las razones por las que la capa externa de la vesícula óptica se diferencia en epitelio pigmentado es el contacto con el mesénquima periocular. Esta afirmación ha sido comprobada en animales de distintas escalas filogenéticas; anfibios (LOPASHOV, 1948 y 1960), aves (ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a) y mamíferos (STROEVA, 1956).

Esta característica fue corroborada por JIMENEZ COLLADO y cols. (1978), demostrando que el epitelio pigmentado se transforma en retina neurosensorial en ausencia de mesénquima periocular; sin embargo, el contacto directo con vasos sanguíneos no sólo puede sustituir la acción del mesénquima, sino que provoca un engrosamiento y una mayor pigmentación de esta capa.

Ante la discordancia de nuestros resultados con las afirmaciones de estos autores, nos planteamos varias respuestas:

En primer lugar, como en algunas zonas la retina no ha alcanzado un buen desarrollo histológico, no puede impedir que la capa externa de la vesícula óptica se transforme en retina.

En segundo lugar, es posible que sea necesaria una cierta cantidad de tejido mesodérmico para impedir que la capa externa de la vesícula óptica se transforme en epitelio pigmentado.

Por último, otra respuesta para explicar este fenómeno, es que el mesénquima se haya relacionado con la capa externa, cuando ésta ya ha comenzado la transformación en retina neurosensorial; por lo que ya no podría inducir su diferenciación en epitelio pigmentado.

A partir de la vesícula óptica injertada en el embrión quimera O-88 se ha diferenciado la retina (ciega y neurosensorial) y el epitelio pigmentado.

La retina ciega incluye la *pars plana retinae* y la *pars ciliaris retinae* (figuras 5, 9 y 10), pero como en los estadios control 30 Z (figuras 2 y 3) y 31 Z (figuras 2 y 5), la *pars iridae retinae* ha desaparecido.

La retina neurosensorial (figuras 7 a 9) ha alcanzado un grado de diferenciación similar a los estadios control 30 Z (figuras 5 y 6) y 31 Z (figuras 4 y 5), aunque existen menos células ganglionares y la capa de fibras ópticas es más fina.

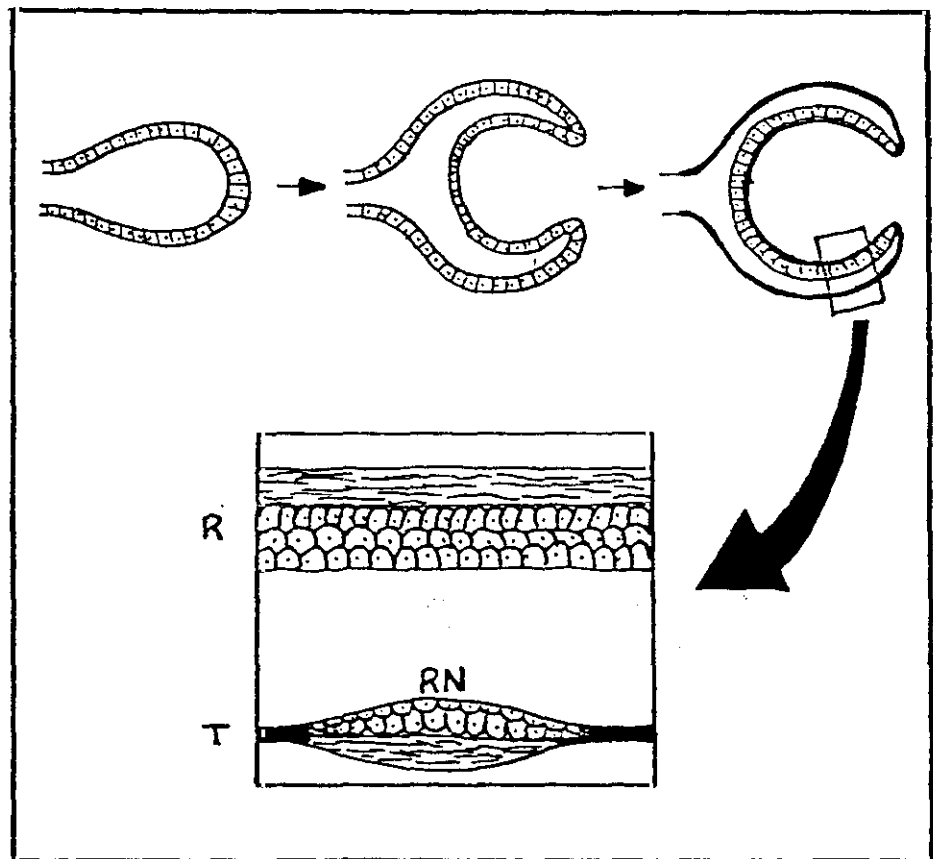
El detalle más interesante se observa al estudiar el epitelio pigmentado, pues aunque presenta un desarrollo normal, en algunas zonas (figuras 4 y 6) pierde bruscamente el pigmento y se engruesa transformandose en un esbozo de retina neurosensorial.

Al comparar esta estructura (figura 6) con la retina neurosensorial que se encuentra justo enfrente (figura 7), observamos que representa su imagen especular; parece una retina invertida a la que le faltan la capa de fotorreceptores y de fibras ópticas.

El aspecto histológico que presenta esta retina transformada a partir del epitelio pigmentado, parece indicar que existe una cierta predisposición en las superficies interna y externa de las capas de la vesícula óptica. De tal forma que en la superficie externa de la capa interna y en la interna de la capa externa, tiendan a concentrarse mayor número de células que en las superficies opuestas.

Esta predisposición podría estar determinada desde el estadio de vesícula óptica primaria como exponemos en el esquema 1.

ESQUEMA 1:



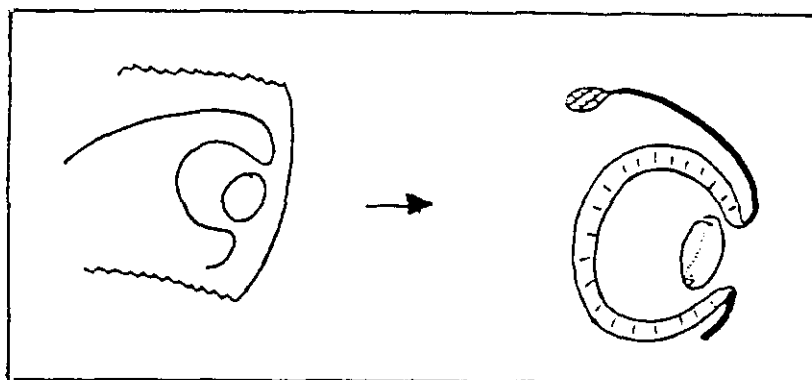
Sin embargo, en el resto de embriones quimera en los que el epitelio pigmentado se ha transformado en retina neurosensorial (como hemos visto y veremos mas adelante) no se observa la misma estratificación que en el embrión 0-88.

Ya hemos comentado, al hablar del embrión O-45, que el epitelio pigmentado puede transformarse en retina neurosensorial cuando pierde contacto con la retina (ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960a ; MURILLO FERROL, 1964; COULOMBRE y COULOMBRE, 1965) y/o en ausencia del mesénquima periocular (LOPASHOV, 1948; STROEVA, 1956; JIMENEZ COLLADO y cols., 1978). Pero en este embrión (O-88) no se cumplen ninguna de las condiciones expuestas por estos autores, pues si bien el epitelio pigmentado y la retina están separados y el mesénquima entre ambos globos oculares es muy escaso, ambos detalles se observan en otras zonas tanto del receptor como del injerto y no vemos que el epitelio pigmentado se transforme en retina neurosensorial.

Además en este caso la retina tampoco presenta una escasa diferenciación histológica.

En el embrión O-15 falta la mayor parte del epitelio pigmentado (figura 2). En las regiones donde se ha desarrollado (figuras 3 y 9) presenta un aspecto similar al estadio control 19 Z (figuras 6 y 8) por lo que observamos que se ha retrasado en relación al estadio teórico que debería haber alcanzado.

ESQUEMA 2:



La ausencia del epitelio pigmentado en algunas zonas puede tener su origen en el momento de la cirugía; pues al ser el injerto muy grande (E: 13 Z) hubo que manipularlo excesivamente y pudo perder parte de la capa externa de la vesícula óptica, como vemos en el esquema 2.

En uno de los bordes libres, el epitelio pigmentado se une, sin solución de continuidad, con un "boton" de tejido nervioso que presenta mayor densidad celular en la superficie externa (figuras 2, 9 y 10).

Debido al escaso desarrollo histológico de este tejido, no podemos afirmar a qué tipo de estructura corresponde. Además la situación (en uno de los extremos del epitelio pigmentado) y la presencia en la vecindad de mesénquima procedente del injerto, justifica que esta estructura no sea retina transformada a partir del epitelio pigmentado; sino parte del diencéfalo que fue incluido en el injerto.

La capa interna de la vesícula óptica se ha diferenciado en retina visual y ciega (figuras 2 y 3), aunque su desarrollo está retrasado en relación al estadio teórico que debería haber alcanzado. Igual que veíamos con el epitelio pigmentado, la retina presenta un aspecto más parecido a los estadios control 18 y 19 Z (figuras 6 y 8 en ambos).

En la retina neurosensorial se observan diferentes grados de desarrollo directamente relacionados con su situación y con las estructuras vecinas.

La máxima diferenciación la ha alcanzado en las zonas donde existe epitelio pigmentado (figura 9). Al desaparecer éste y relacionarse directamente con el mesénquima periocular

presenta un desarrollo algo más retrasado (figura 8); aunque este retraso se acentúa y el espesor se reduce a menos de la mitad cuando crece junto al ectodermo y carece de mesénquima (figura 7).

Observamos que la retina se ha diferenciado a partir de la capa de la vesícula óptica que está íntimamente relacionada con el mesénquima. Este detalle no se corresponde con los autores como LOPASHOV (1948 y 1960), ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a) y STROEVA (1956), cuando afirman que la capa de la vesícula óptica que crece aislada del mesénquima es la que se transforma en retina.

En el embrión O-37 y a partir de la capa externa de la vesícula óptica injertada que ha crecido junto al globo ocular derecho del receptor, se ha diferenciado el epitelio pigmentado con un desarrollo histológico normal (figuras 4, 10 y 13 a 15) y muy semejante al aspecto que presenta el estadio teórico control 21 Z (figuras 7 y 9) que ha alcanzado.

Sin embargo, en el lado opuesto donde se relaciona directamente con el mesénquima periocular, pierde parcial (figuras 4 y 11 a 13) o totalmente (figuras 14 y 15) el pigmento y se engruesa, transformándose en retina neurosensorial.

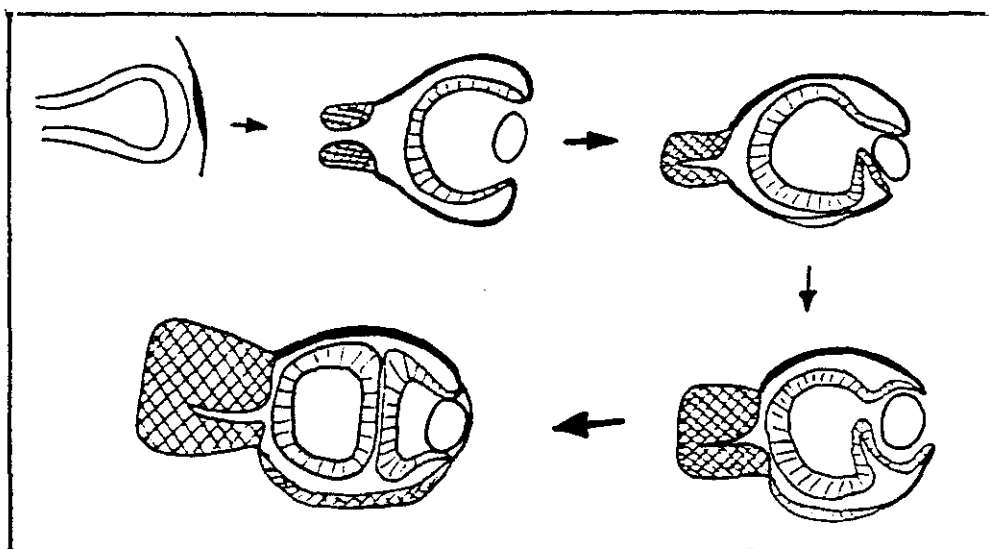
Esta característica del epitelio pigmentado ya la hemos observado en mayor o menor escala en otros embriones quimera (O-45 y O-15). La transformación surge a partir del epitelio pigmentado que está en contacto con el mesénquima periocular. Los últimos granos de pigmento permanecen en la superficie

interna que está en contacto con la retina.

Por lo tanto los hallazgos en este embrión son similares a los observados en los embriones O-45 y O-88.

En la región posterior, el epitelio pigmentado se continúa con una estructura nerviosa (figuras 4, 8 y 9). El aspecto es muy parecido al que aparece en la figura 8 del estadio control 20 Z. Por lo tanto pensamos que en el injerto se incluyó parte del diencéfalo unido al pedículo óptico y éste se ha desarrollado parcialmente, como podemos observar en el esquema 3.

ESQUEMA 3:



En el injerto aparecen algunos detalles como las dos cavidades que forma la retina (figuras 13 a 15) que intentamos explicar en el esquema 3 y el mayor desarrollo que ha alcanzado la retina que ha crecido en contacto con el epitelio pigmentado típico (figura 10), en relación con aquella que lo ha hecho junto al epitelio pigmentado transformado en retina neurosensorial (figuras 11 y 12).

La retina desarrollada junto al epitelio pigmentado presenta en la superficie interna una capa acelular (fibras ópticas) y en la externa una hilera de células que corresponde a los neuroblastos de los fotorreceptores. El aspecto corresponde al estadio control 21 2 (figura 9) que ha alcanzado.

La retina desarrollada junto al epitelio pigmentado transformado en retina es más delgada, carece de capa de fibras ópticas y en la superficie externa aparecen algunas células aisladas que pueden corresponder a los esbozos de los fotorreceptores.

Ambas se adelgazan en los bordes de la vesícula óptica cuando se separan del epitelio pigmentado (figura 5).

En cortes periféricos del injerto observamos pliegues de la retina neurosensorial a los que no acompaña el epitelio pigmentado. En el esquema 3 intentamos explicar su mecanismo de producción.

En la figura 13 vemos que la retina plegada y la que está junto al epitelio pigmentado diferenciado en retina neurosensorial es algo más delgada que la del resto del injerto. No vamos a insistir en la explicación pues ya la hemos comentado en los embriones anteriores; sin embargo, queremos aclarar que si este detalle no se observa en las figuras 14 y 15 se debe a que la retina se ha cortado en bisel y tangencialmente.

La retina y el epitelio pigmentado del embrión 0-10 presentan algunas características semejantes a los embriones vistos hasta ahora. En general ambas capas (figuras 4 a 6) han alcanzado un desarrollo parecido al del estadio control 19 Z (figuras 6 y 8) que ha alcanzado.

En la superficie interna de la retina neurosensorial observamos una estrecha banda que corresponde a la capa de fibras ópticas (figura 5). En cortes periféricos del injerto vemos como los axones de las células ganglionares salen por el pedículo óptico (figura 11) de igual forma que en el estadio control 19 Z (figura 7). En esos mismos cortes, la retina neurosensorial se adelgaza ligeramente en las zonas que se relaciona con el pedículo óptico y donde el epitelio pigmentado altera su estructura normal (figuras 9 a 11).

En la mayor parte del injerto el epitelio pigmentado presenta un desarrollo histológico normal; sin embargo, cerca de la salida del fascículo óptico existen zonas donde se observa una pérdida de pigmento y un aumento de grosor (figuras 9 a 11).

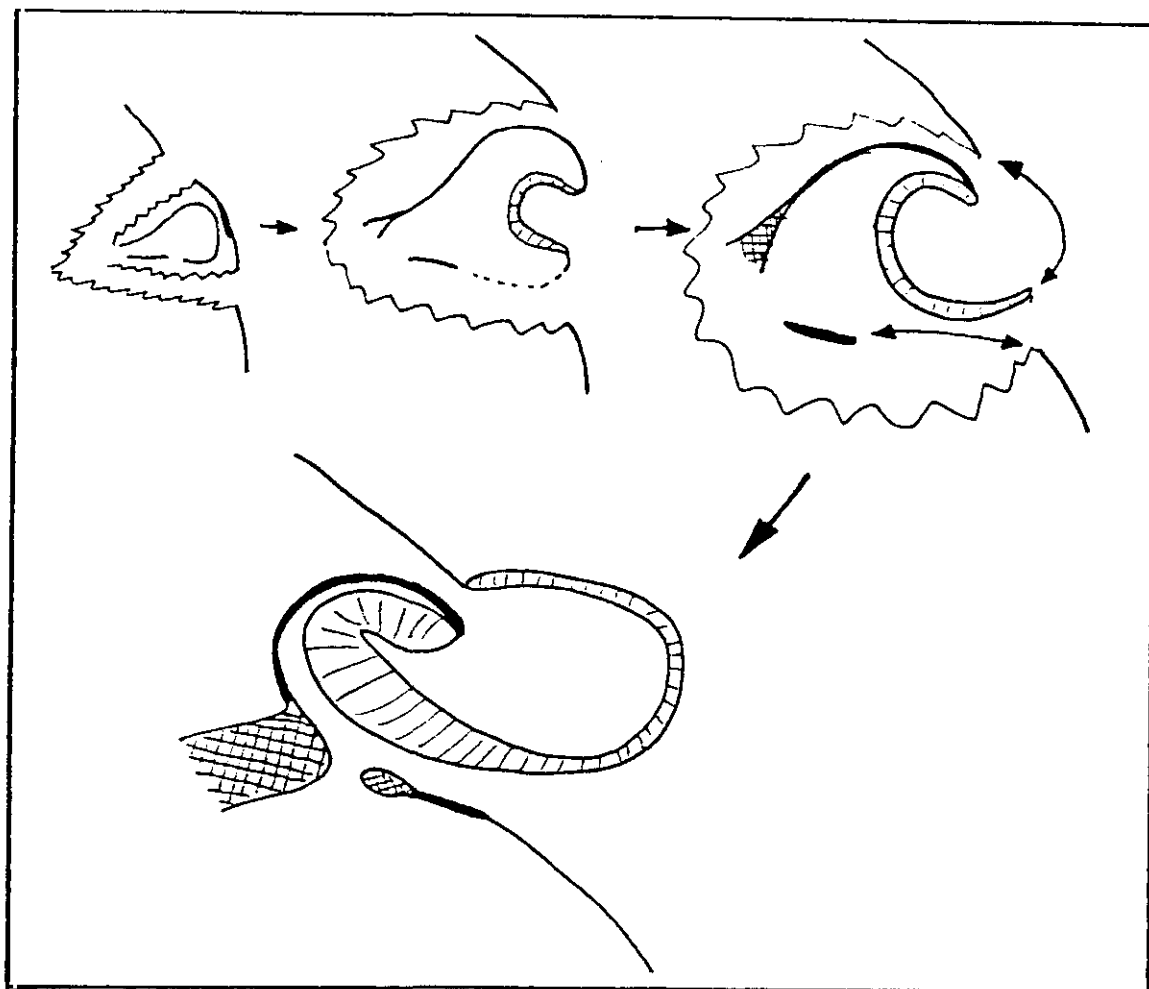
El pedículo óptico finaliza en el interior de la estructura nerviosa (figuras 3 a 9). Pensamos que con la vesícula óptica se pudo injertar parte del diencéfalo unido al pedículo óptico, como en el embrión 0-37.

En el embrión 0-8 parte de la retina se ha desarrollado vesiculada fuera del receptor y el resto en el interior (figuras 3 a 6).

La retina externa en unas zonas se continúa con la retina interna (figuras 12 y 14); sin embargo, en otras se une al ectodermo superficial (figuras 11a a 11c).

Esta característica está directamente relacionada con el hecho de que en algunas regiones del injerto, el epitelio pigmentado también se une, sin solución de continuidad, con el ectodermo superficial (figuras 4, 6, 12 y 13).

ESQUEMA 4:



Pensamos que las uniones del ectodermo superficial con la retina externa (por una parte) y con el epitelio pigmentado (por otra), tiene su origen en el momento de la cirugía y en las primeras horas de reincubación como explicamos en el

esquema 4.

La vesícula óptica se injerta parcialmente rota. Si a ésto añadimos que el ectodermo y la vesícula óptica tienen un origen común (neuroectodérmico en el caso de la retina y el epitelio pigmentado), podemos explicar el proceso seguido por el injerto y el aspecto final que presenta.

Existen diferencias importantes entre la retina externa e interna; ésta que se ha desarrollado rodeada por el epitelio pigmentado es gruesa (figura 7) y presenta algunos pliegues de menor grosor a los que no acompaña el epitelio pigmentado (figuras 4, 11a y 12).

Aunque en la retina interna se observa mayor grado de diferenciación que en la externa, no se distinguen signos de estratificación. Sin embargo, en la superficie interna existe una franja acelular que identificamos como la capa de fibras ópticas (figura 7), pues es similar a la que presenta la retina del estadio control 18 Z (figura 8) que corresponde al estadio teórico que debería haber alcanzado.

Por el contrario la retina externa (figura 8) y los pliegues de la retina interna (figura 12), muestran un menor grado de desarrollo y en su espesor no se distingue ningún tipo de organización celular.

La capa interna de la vesícula óptica que ha crecido fuera del embrión se ha diferenciado en retina porque para ello no es necesaria la diferenciación de la capa externa (JOHNSON, 1935; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960b; MURILLO FERROL, 1964a). Sin embargo, no ha alcanzado un desarrollo histológico normal porque para ello necesita el contacto con

el epitelio pigmentado (COULOMBRE, 1955; FUJISAWA, 1971; FUJISAWA y cols., 1974) o al menos la presencia del mesénquima periocular como veíamos en el embrión O-15. Si a esto le añadimos que la tensión que existe en el interior del injerto tiene que influir casi exclusivamente sobre la retina externa, ésta se distiende, se adelgaza y alcanza un menor grado de diferenciación.

En el esquema 4 ya hemos explicado el origen más probable por el cual el epitelio pigmentado se continúa con el ectodermo superficial; pero queda por comentar la relación con la estructura nerviosa derivada del injerto (figuras 3, 4, 9, 14 y 15).

Si observamos las figuras 14 y 15, vemos que tienen un gran parecido con la figura 8 del estadio control 20 Z. Probablemente en el injerto se incluyó parte del diencéfalo en uno de los extremos del pedículo óptico y por ello en algunas zonas se ha diferenciado el fascículo óptico y el sistema nervioso central.

En la figura 15, el epitelio pigmentado situado junto al vaso sanguíneo, aparece más oscuro. Este detalle corrobora las afirmaciones de DABAGHIAN (1958) y JIMENEZ COLLADO y cols. (1978), cuando observan que el epitelio pigmentado es más grueso y presenta mayor cantidad de pigmento en las zonas donde existen penachos vasculares.

En el embrión O-20 el injerto ha crecido aislado (figuras 1 y 2). Excepto a nivel del segmento anterior (figuras 2 y 6), el tejido mesodérmico que rodea el epitelio pigmentado es

muy escaso (figura 7) e incluso en algunas zonas se reduce a una sola hilera de células mesenquimales (figura 8).

El grado de desarrollo del epitelio pigmentado parece guardar una relación directa con la cantidad de mesodermo que lo recubre. El aspecto histológico del epitelio pigmentado en las zonas donde existe mayor cantidad de pigmento (figura 7) podría corresponder a un estadio intermedio entre los controles 18 y 19 Z (figura 8 en ambos). Sin embargo, no hemos encontrado ningún embrión control cuyo epitelio pigmentado se parezca al del injerto donde el mesodermo prácticamente está ausente (figura 8), pues a veces carece de pigmento y es difícil de identificar.

El desarrollo del epitelio pigmentado está relacionado con la cantidad de mesénquima. Así LOPASHOV (1948, 1960), STROEVA (1956) y ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a), observaron que el epitelio pigmentado se diferencia a partir de la capa de la vesícula óptica que está en contacto con el mesénquima periocular. Además JIMENEZ COLLADO y cols. (1978), describen una relación directa entre el grado de desarrollo del epitelio pigmentado y la vascularización del mesodermo.

En nuestro caso la escasez de mesodermo va acompañada de una menor vascularización.

La morfología de la retina neurosensorial también guarda una relación directa con el grado de diferenciación del epitelio pigmentado.

En las zonas donde el epitelio pigmentado está más desarrollado, la retina (figura 7) es gruesa y en su espesor se observan sobre todo, los fotorreceptores y una delgada capa de fibras ópticas. Sin embargo, en el espesor de la retina que se relaciona con el epitelio pigmentado poco desarrollado (figura 8) existe escasa celularidad y apenas se distinguen algunos fotorreceptores.

Si a lo expuesto, añadimos que la presión intraocular se ejerce por igual sobre todo el globo ocular, es fácil comprender el aspecto de la retina y del epitelio pigmentado.

Como el embrión O-77 murió *in ovo*, la mayor parte de las estructuras están alteradas histológicamente. Este detalle justifica la desestructuración de los tejidos.

En el segmento anterior del globo ocular observamos que el epitelio pigmentado (figura 4) es algo más grueso que en el estadio teórico control 30 Z (figura 2) que debería haber alcanzado y además está mucho más pigmentado que en el resto del injerto (figura 5). A ese nivel no sólo forma parte de los esbozos del iris y de los procesos ciliares, sino que existe una prolongación que se dirige al cristalino (figuras 5 y 6).

En la mayor parte del globo ocular la retina neurosensorial y ciega está separada del epitelio pigmentado (figuras 4 y 5). Sin embargo, la *pars ciliaris retinae* forma parte del esbozo de los procesos ciliares (figura 7).

En la retina neurosensorial las células ganglionares son muy escasas y no existen fibras ópticas; pero se observan perfectamente la capa nuclear externa y los fotorreceptores poco diferenciados (figuras 5 y 8). Con todos estos detalles es difícil encontrar una retina similar entre los estadios control; sin embargo, podríamos compararla, salvando las diferencias, a la del estadio 23 Z (figura 6).

En el embrión 0-35 ambas capas de la vesícula óptica injertada muestran un retraso en el desarrollo.

La retina (figuras 5 y 6) es similar a la que observamos en el estadio control 17 Z (figuras 6 y 7).

En la capa externa se distingue una ligera pigmentación en la zona central (figuras 5 y 7) parecida a la que presenta el estadio control 18 Z (figuras 7 y 8); sin embargo, en los bordes es difícil encontrar granos de pigmento (figuras 6 y 7), por lo tanto los comparamos con el 17 Z (figuras 4 y 7).

El detalle más interesante se observa en uno de los bordes, donde ambas capas de la vesícula óptica están separadas (figura 7). El espacio entre la retina y el epitelio pigmentado y los cambios morfológicos que presentan nos indican que no corresponde al ventrículo óptico (como en el lado opuesto); por el contrario pensamos que a ese nivel, ambas capas de la vesícula óptica nunca han estado en contacto.

El epitelio pigmentado pierde el pigmento y aumenta de espesor siendo incluso mayor que en el borde. Parece el inicio de la transformación en retina.

La capa interna se adelgaza bruscamente, disminuyendo el número de células.

La imagen que mostramos en las figuras 3 y 7 son parecidas a las que obtienen ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a), cuando en sus experimentos introducen entre las dos capas de la vesícula óptica un hilo de Nylon.

Podemos decir que espontáneamente hemos obtenido un modelo experimental similar a la introducción de un cuerpo extraño, pero sin cuerpo extraño.

En el injerto del embrión O-39, ambas capas de la vesícula óptica presentan un retraso en el desarrollo; pues el epitelio pigmentado (figuras 7 a 10) tiene un aspecto más parecido al estadio control 18 Z (figuras 6 y 8) que al estadio teórico 21 Z, que debería haber alcanzado.

Lo mismo sucede en la capa interna de la vesícula óptica, donde únicamente se distingue una estrecha capa de fibras ópticas (figuras 8 a 10) de similar morfología a la que vemos en el estadio control 18 Z (figura 8).

2.1.4. CUERPO VITREO. PROCESOS CILIARES. IRIS

El único injerto de este método donde no hemos observado ningún esbozo de cuerpo vítreo ha sido en el embrión O-8.

En los injertos menos desarrollados (O-35, O-10, O-39, O-37, O-20 y O-15) aparecen solamente algunos esbozos de esta estructura; pues como ocurre en los embriones control entre los estadios 19 a 21 Z, el proceso histológico provoca la desaparición de la mayor parte del vítreo.

Según nuestros resultados, en el embrión de codorniz los procesos ciliares comienzan a plegarse en el 7º día de incubación (E: 24 Z); sin embargo, para JIMENEZ COLLADO y cols. (1978) este proceso tiene lugar un día antes, en el 6º (E: 22 Z).

En el Método A únicamente tres embriones han superado el estadio 23 Z (O-45, O-88 y O-77) y en los tres se distingue esta estructura.

En el O-45 los procesos ciliares (figuras 4 y 8h) presentan un aspecto similar al del estadio teórico control 24 Z (figura 5) que debería haber alcanzado. De la misma forma en los embriones O-88 (figuras 4 y 5) y O-77 (figuras 5 y 7), los procesos ciliares tienen una morfología parecida a la del estadio teórico control 30 Z (figuras 2 y 7) que deberían haber alcanzado; sin embargo, insistimos que en el embrión O-77 existe una desestructuración derivada de la muerte *in ovo*.

El iris es una estructura cuya valoración es menos objetiva que otras, pues los bordes de la vesícula óptica son su primer esbozo. Hablamos de esbozo iridiano cuando ambas capas de la vesícula óptica se ponen en contacto (E: 15-16 Z).

Según esto, todos los injetos del Método A deben tener el iris o al menos un esbozo. Por las especiales características de los embriones O-8 y O-45 no es posible identificar esta estructura.

En los embriones O-35, O-77, O-37 y O-20 el iris está deformado al menos en algunas zonas; mientras que en el resto presentan una morfología normal y un grado de diferenciación similar o ligeramente retrasado en relación al estadio teórico que deberían haber alcanzado.

2.2. METODO B

De los 69 embriones operados según el Método B hemos elegido tres, dos vivos (O-150 y O-106) y uno muerto pero no macerado (O-146).

Siguiendo los mismos criterios que para el Método A desestimamos los embriones macerados (con o sin injerto) y los que a pesar de estar vivos no presentaban injerto o éste no se había desarrollado.

En algunas ocasiones las zonas correspondientes a la intervención estaban cubiertas por plumas pigmentadas o por sus esbozos; sin embargo, tras el estudio histológico no se observó ninguna estructura derivada del injerto.

El injerto se localizó junto al globo ocular derecho del receptor (O-146) o sobre él (O-150 y O-106) y excepto en el O-146, el resto presentaban esbozos pigmentados de plumas de codorniz.

En los embriones O-150 (figuras 3 a 5) y O-106 (figuras 2 a 4), se ha desarrollado una estructura cuyo aspecto histológico es similar al tejido nervioso. La aparición de estas formaciones solamente puede justificarse (como en algunos embriones del Método A) por la inclusión con el injerto de un fragmento de la pared del diencéfalo.

Por otro lado, en el embrión O-150, creemos que con la vesícula óptica se incluyó parte de tejido presuntivo del proceso mandibular; pues se ha desarrollado una estructura que histológicamente corresponde al pico de las aves (figura 8).

2.2.1. CORNEA

En el injerto del embrión O-146 se ha diferenciado la córnea (figuras 3 a 5) cuyo grado de desarrollo corresponde al estadio control 18 Z (figura 5); pues en su espesor observamos el epitelio, el estrato acelular y el endotelio. Por lo tanto se ha retrasado, ya que debería haber alcanzado un estadio teórico 21 Z.

Si al periodo de latencia originado por la intervención, añadimos las horas desde la muerte (*in ovo*) hasta la fijación; podemos explicar al menos parte del retraso en el desarrollo que presenta la córnea del injerto.

La cámara anterior ha alcanzado una buena diferenciación en la mayor parte del injerto; sin embargo, hay zonas donde es muy extensa (figura 4) y zonas cuyo límite interno no es el cristalino, sino el borde de la vesícula óptica (figura 3).

Si en esta zona se ha desarrollado la cámara anterior es debido a que la capa externa de la vesícula óptica aún no se ha pigmentado en los bordes (figura 8). Pues GENIS GALVEZ y cols. (1967), observaron que el pigmento inhibe la formación de la cámara anterior.

En el embrión O-150 (figuras 6 y 7), se distingue una formación cuya estructura histológica guarda cierta semejanza con la córnea del estadio control 26 Z (figura 4).

La situación de la córnea y su relación con las estructuras vecinas no favorecen su normal desarrollo, pues a partir de la vesícula óptica injertada no se ha desarrollado el globo ocular sino únicamente la córnea y el cristalino. Si

a ello añadimos que no existe cámara anterior y que la superficie interna está en contacto con el esbozo cristalino, es fácil comprender que el aspecto histológico que presenta esté tan retrasado y únicamente tenga un cierto parecido con las córneas de los estadios control.

2.2.2. CRISTALINO

El cristalino del injerto desarrollado en el embrión O-146 (figuras 3 a 5 y 8) ha alcanzado un grado de diferenciación semejante al estadio control 18 Z (figura 4); aunque es ligeramente mayor de tamaño y el límite entre epitelio anterior y fibras cristalinianas no es tan nítido.

El retraso entre el estadio real (18 Z) y el teórico que debería haber alcanzado (21 Z) creemos que se debe, como en la córnea, al tiempo de latencia originado por la cirugía y a la muerte del embrión horas antes de fijarlo.

En el injerto del embrión O-150, se ha desarrollado una estructura que recuerda al cristalino aunque sin el epitelio anterior (figuras 6 y 7). Sólo pueden identificarse las fibras.

Si hacemos referencia únicamente al tamaño, vemos que es similar al cristalino del estadio 19 Z (figura 4).

Por el aspecto que presenta esta estructura creemos que es más correcto utilizar el término cuerpo lentoide o cuerpo cristaliniano empleado por ALEXANDER (1937). Este autor observa que la vesícula óptica puede inducir el crecimiento de hasta cinco estructuras cristalinianas a partir del ectodermo del injerto y/o del receptor.

En este embrión la única estructura que se relaciona con el cristalino es el epitelio pigmentado del receptor.

2.2.3. RETINA Y EPITELIO PIGMENTADO

En el injerto del embrión O-146 se ha desarrollado la retina neurosensorial y el epitelio pigmentado.

La retina presenta una celularidad uniforme sin signos de estratificación (figura 7). Podemos compararla con la retina del estadio control 18 Z (figura 8); sin embargo, en la superficie interna es difícil identificar la capa de fibras ópticas. Este detalle puede tener su origen en la alteración de los tejidos por la muerte *in ovo*, o simplemente porque no se han diferenciado las fibras.

La mayor parte de los pliegues de la retina son de escaso tamaño y están tapizados por el epitelio pigmentado (figuras 3, 4 y 7).

En cortes periféricos observamos que en unas zonas no se ha desarrollado el epitelio pigmentado y en otras, éste se ha transformado en retina (figura 6). En ambos casos y sobre todo en ausencia de la capa externa, la retina presenta un grosor inferior al resto e incluso aparece parcialmente rota. La rotura coincide con la zona de menor grosor y creemos que se originó cuando en embrión permaneció muerto dentro del huevo y se acentuó durante el proceso histológico.

Si el globo ocular se hubiese desarrollado parcialmente roto, estaría colapsado, los pliegues de la retina serían más acentuados y no estarían cubiertos por el epitelio pigmentado como afirman WEISS y AMPRINO (1940), COULOMBRE (1956a) y JIMENEZ COLLADO (1977). Además en el interior del globo ocular se observa parte del cuerpo vítreo.

Por el contrario, si el proceso histológico fuese la única causa de la rotura no existirían pliegues de la retina y del epitelio pigmentado.

La capa interna de la vesícula óptica injertada comienza a desarrollarse, pues para ello no necesita la diferenciación de la capa externa (JOHNSON, 1935; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960b; MURILLO FERROL, 1964a). Sin embargo, como carece del epitelio pigmentado no puede diferenciarse histológicamente en retina (WEISS y AMPRINO, 1940; COULOMBRE, 1955 y 1956a; FUJISAWA, 1971; FUJISAWA y cols., 1974; JIMENEZ COLLADO, 1977).

Observamos que se ha desarrollado un quiste de retina en la zona donde ésta se apoya sobre el epitelio pigmentado transformado en retina (figura 6). El espesor de su pared coincide, como es natural, con el de la retina que carece del soporte de la capa externa. Aunque es el único caso de quiste retiniano que hemos encontrado en nuestros injertos, pensamos que no es casual que aparezca en la retina que se ha desarrollado junto al epitelio pigmentado transformado en retina.

En la mayor parte del injerto el epitelio pigmentado (figuras 3 y 4) ha alcanzado un grado de diferenciación similar a los estadios control 17 Z (figuras 7 y 8) y 18 Z (figuras 5, 6 y 8).

El epitelio pigmentado se engruesa, pierde el pigmento y se transforma en retina (figura 6), en la periferia del injerto; esto corrobora la equipotencialidad que presentan ambas capas de la vesícula óptica y que fue expuesta por ALEXANDER (1937).

El punto donde comienza la transformación, coincide con la desaparición de la mayor parte del mesénquima; éste detalle coincide con las observaciones de LOPASHOV (1948 Y 1960), STROEVA (1956), ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ (1960a) y JIMENEZ COLLADO y cols. (1978); pero no con algunos de nuestros injertos del Método A.

En el injerto del embrión O-106, observamos que se ha desarrollado un esbozo de retina neurosensorial en forma de vesícula, unida a la pared del globo ocular derecho del receptor por un pedículo de epitelio pigmentado. En su interior se distingue el vítreo (figuras 3 y 4).

La retina está muy desestructurada y no recuerda a la de ningún estadio control. En su espesor se observan una o dos capas de células según las zonas; sin embargo, en la superficie interna no se identifican las células ganglionares y en la externa existe una hilera de células que puede corresponder a los fotorreceptores, pero en los que no se han diferenciado los artículos externos.

Pensamos que la morfología y estructura que presenta la retina se debe a un doble motivo. En primer lugar creemos que el traumatismo sufrido por el embrión antes de ser fijado ha podido influir en el aspecto microscópico.

En segundo término ya hemos mencionado los trabajos de COULOMBRE (1955 y 1956a), FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974); estos autores observan que la capa interna de la vesícula óptica necesita el apoyo del epitelio pigmentado para alcanzar un perfecto desarrollo histológico de todas sus

capas. La ausencia del epitelio pigmentado influye directamente sobre los fotorreceptores y en ellos no se diferencian los artículos externos. De la misma forma, si no existe un órgano diana, las células ganglionares o no se diferencian o su desarrollo es atípico.

En el injerto del embrión O-150, se observa una capa de pigmento que tapiza la superficie interna del cristalino (figura 7). Debido a que histológicamente es imposible distinguir el origen de esta estructura y a causa de la estrecha relación que existe con el epitelio pigmentado del ojo derecho, pensamos que deriva del embrión receptor.

Las características del injerto en este embrión hacen imposible la presencia del vítreo, pues no se han diferenciado ni la retina ni el epitelio pigmentado. Sin embargo, es normal que se haya desarrollado en los embriones O-146 y O-106; no sólo por el estadio alcanzado, sino por la presencia de una cavidad rodeada de retina neurosensorial más o menos diferenciada.

2.3. METODO C

De los 149 embriones operados con el Método C, hemos escogido 9 vivos. En 7 el injerto prendió y se desarrolló en la región craneal y media de la cabeza; sin embargo, varía la orientación, el número de estructuras que han crecido y su grado de diferenciación.

Los otros dos embriones incluidos en el estudio (O-227 y O-230), presentan una microftalmía izquierda y en relación con el injerto sólo se observan esbozos pigmentados de plumas y pigmentación del borde palpebral en el lado de la microftalmía; por lo que hablaremos de ellos al final.

Antes de comenzar es necesario comprender el por qué los injertos presentan morfologías tan distintas dentro de la cavidad craneal.

Parece claro que en el embrión O-213, la vesícula óptica se introdujo bien orientada, mientras que en el O-173 y O-263 el injerto quedó orientado hacia el interior. Los tres conservan un aspecto idéntico o parecido al globo ocular.

Sin embargo, en el resto (O-310, O-260, O-159 y O-288) no sucede igual y el desarrollo desordenado de las estructuras oculares tiene su origen en la excesiva manipulación del injerto al introducirlo a nivel del neuroporo anterior.

2.3.1. EMBRION O-213

Como vimos en los resultados, a partir de la vesícula óptica injertada en el embrión O-213 ha crecido un globo ocular perfectamente desarrollado. Por este motivo y por la presencia de estructuras pertenecientes al injerto, pero no relacionadas con el órgano de la visión, hemos decidido estudiarlo globalmente al margen del resto.

El motivo que justifica el desarrollo de estas estructuras puede ser que el injerto se obtuvo de un embrión del estadio 8 Z; es decir, muy poco diferenciado, lo que supone un mayor riesgo de incluir tejidos vecinos con la vesícula óptica. El ejemplo más claro es la presencia de un pico superior (pigmentado) e inferior pertenecientes a la codorniz (figuras 1 a 3). Es lógico pensar que con la vesícula óptica se injertó tejido prospectivo de los procesos maxilar y mandibular.

A causa del trauma quirúrgico faltan algunos huesos del cráneo del receptor, por lo que es posible observar varias estructuras del sistema nervioso central. Es muy difícil asegurar, tanto macro como microscópicamente, si alguna de las estructuras nerviosas que han crecido fuera de la cavidad craneal pertenece o no al injerto. Únicamente el hecho de que el nervio óptico del injerto se dirija y contacte con la estructura nerviosa situada entre el globo ocular del receptor y el del donante, nos podría hacer pensar que esta estructura pertenece al injerto (figura 5).

En contra de esta posibilidad existen varios argumentos, no definitivos, que vamos a enumerar:

La tonalidad de todas las estructuras nerviosas, es similar (figura 5). Por el contrario en algunos injertos hemos observado que el tejido nervioso procedente del injerto y teñido con BIELCHOWSKI, tiene una coloración más oscura que el del receptor.

HEATON (1973), en sus heterotransplantes homotópicos de vesícula óptica, observó que el nervio óptico del donante (codorniz) contactaba con el sistema nervioso del receptor (pollo).

También ALVARADO-MALLART y SOTELO (1984), reconocen que los nervios ópticos de los embriones receptores (pollo) sinaptan en el tectum óptico de codorniz transplantado homo y heterotópicamente.

Aunque no podemos olvidar que estos autores basan sus conclusiones en trabajos realizados mediante transplantes, creemos que sus resultados al demostrar que no existe una influencia especie-específica entre el nervio óptico y el sistema nervioso central (tectum óptico), son significativos.

Por todo lo expuesto, uno de los métodos que nos permitiría confirmar sin ninguna duda cuál de las estructuras nerviosas pertenece al injerto, sería la tinción de los cortes con FEULGEN y observando el nucleolo de las células.

Otro método utilizado en Embriología consiste en inyectar sustancias, como la HRP o aminoácidos radiactivos, en uno de los globos oculares del embrión receptor (CONSTANTINE-PATON y CAPRANICA, 1976a y b; LAW y CONSTANTINE-PATON, 1978;

CONSTANTINE-PATON y LAW, 1978 y 1983; ALVARADO-MALLART y SOTELO, 1984; ALFONSO SANCHEZ, 1986).

El injerto del embrión O-213, es el único de todos los realizados (Métodos A, B y C), donde se han desarrollado normalmente el pecten (figuras 6 y 11) y el nervio óptico (figuras 12 a 18). El aspecto de ambos es similar al estadio control 1+ (figura 6).

La presencia de estas estructuras podemos justificarla basandonos en la cantidad de tejido injertado y en su correcta orientación en el receptor, lo que ha permitido un crecimiento completamente fisiológico. Además es significativo que en el embrión donde han crecido estructuras extraoculares perfectamente diferenciadas como el pico superior, sea donde la vesícula óptica haya alcanzado un grado de desarrollo tan completo.

Es el único embrión del Método C donde se ha desarrollado la córnea (figuras 7 y 8) que presenta un aspecto similar al estadio control 1+ (figuras 2 y 3). Pensamos que el crecimiento de la córnea se debe sobre todo a la perfecta orientación de la vesícula óptica en el lugar del injerto.

La retina neurosensorial muestra una estructuración en capas (figura 9) parecida a la retina del estadio control 33 Z (figura 5), aunque de menor grosor. En las pocas zonas donde no ha perdido el contacto con el epitelio pigmentado, se observan algunas interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado, similares a las que existen en el estadio control 33 Z (figura 5). Este detalle parece indicar que además de la

influencia del estímulo luminoso sobre la retina, hay una tendencia de tipo evolutivo que provoca la aparición de las interdigitaciones.

2.3.2. CRISTALINO

El cristalino aparece en los 7 embriones del Método C donde el injerto se ha desarrollado. En 4 ha crecido en el interior de la cavidad craneal, sin ningún contacto o relación con la retina; ya sea porque ésta no se ha desarrollado (O-259 y O-288) o porque se interpone alguna otra estructura (O-260 y O-310)

En el embrión O-259 se distinguen dos estructuras (figura 6) que identificamos como cuerpos cristalinos o cuerpos lentoides, pues su tamaño y aspecto histológico están muy lejos de parecerse al cristalino del estadio teórico que debería haber alcanzado.

Estos términos fueron acuñados por ALEXANDER (1937), al distinguir hasta cinco estructuras cristalinas diferenciadas a partir del ectodermo del injerto, del huesped o de ambos.

Años antes DANCHAKOFF (1924), observó que cuando la vesícula óptica mantiene un contacto continuo con el ectodermo, existe una tendencia a que se formen más de un cristalino.

Ambos autores consideran imprescindible la presencia de la vesícula óptica y en este embrión la única estructura derivada de la vesícula óptica es el epitelio pigmentado que se relaciona con uno de los cuerpos lentoides.

En el embrión O-260 sólo existe una estructura cristalina (figuras 3 y 5), pero el aspecto histológico y el tamaño tampoco recuerda al del estadio teórico; aunque en

este caso sí se ha desarrollado la retina, y el epitelio pigmentado se interpone entre ella y el cristalino.

El cristalino del embrión O-288 (figuras 4 y 5), también es pequeño en relación con el estadio teórico; sin embargo, al contrario que en los dos casos anteriores, presenta una corona de epitelio anterior rodeando las fibras.

En este embrión no existe retina, pues a partir de la vesícula óptica solamente se ha diferenciado el epitelio pigmentado y en algunas zonas está en íntimo contacto con parte del epitelio anterior.

Mucho más grande es el cristalino del embrión O-310 (figuras 4 y 5). En su interior se observan las fibras cristalinianas y en algunas distinguimos los núcleos picnóticos. En este caso el cristalino no se relaciona con ninguna de las estructuras que derivan de la vesícula óptica (retina y epitelio pigmentado).

Aunque la mayor parte de los autores están de acuerdo en que la presencia de la retina es necesaria para el desarrollo normal del cristalino, CLAVERT (1977) observó que en mamíferos el cristalino continúa desarrollandose en ausencia de la retina.

McKEEHAN (1954), cuando extirpa la vesícula óptica en estadios precoces obtiene cristalinos pequeños e indiferenciados.

Además los trabajos de ALEXANDER (1937) y AMPRINO (1949b), demostraron que el epitelio pigmentado puede inducir, en ausencia de retina, la formación del esbozo cristaliniano; pero es incapaz de continuar su desarrollo.

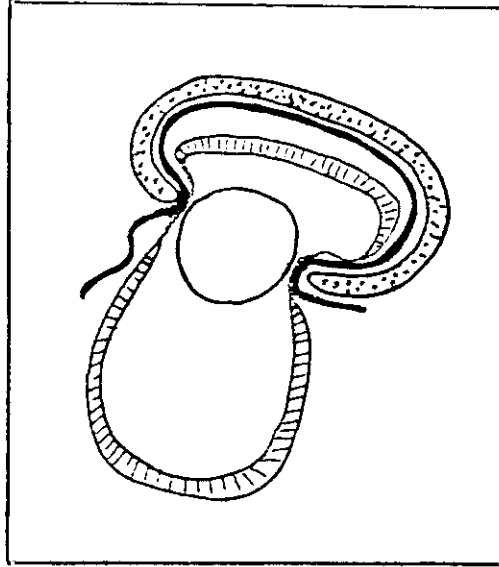
Las afirmaciones de estos autores pueden explicar, al menos en parte, la presencia de formaciones cristalinianas en los injertos de los embriones quimera O-259, O-260 y O-288; sin embargo, no así en el O-310.

Si extrapolamos al embrión O-310 los resultados de DRAGOMIROV (1924), cuando observa formaciones fibrilares en la superficie de la vesícula cristaliniana que contacta con una estructura nerviosa como el otocisto; vemos que el cristalino está en íntimo contacto con el sistema nervioso central. Esta relación podría explicar la presencia de fibras cristalinianas, aunque de distribución anárquica.

En los injertos de los embriones O-263 y O-173, el cristalino se ha desarrollado formando parte de un globo ocular más o menos diferenciado, que ha crecido orientado al interior de la cavidad craneal.

Por la morfología que adopta el injerto del embrión O-263 (Esquema 5), en algunas zonas el cristalino está completamente rodeado por la retina (figuras 3 y 17). Este detalle no influye en la estructuración del cristalino, al contrario de lo que afirman COULOMBRE y COULOMBRE (1963) y GENIS GALVEZ y cols. (1966 y 1967), cuando describen que la superficie del cristalino que se relaciona con la retina se transforma en fibras.

ESQUEMA 5:



Sin embargo, existen varios hechos que para nosotros pueden justificar la presencia del epitelio anterior a pesar de que el cristalino esté rodeado por retina. En primer lugar, el plano ecuatorial del cristalino no está orientado en el mismo sentido que el plano del teórico orificio pupilar (orificio formado por el cartílago escleral); en segundo término, el epitelio anterior se localiza sobre todo en las zonas de contacto con la retina ciega y el epitelio pigmentado, y no con la retina neurosensorial. Además es posible que en las primeras fases del desarrollo la retina no rodease el cristalino.

En el injerto del embrión O-173, se ha diferenciado un cristalino (figura 5) que presenta un tamaño similar al del estadio control 32 Z (figura 3). Igual que en el embrión anterior (O-263), la orientación del injerto (figura 4) hace que el cristalino se encuentre en el interior de la cavidad craneal.

La presencia de núcleos en las fibras cristalínas, no debe confundirnos y hacernos pensar en un gran retraso en el grado de diferenciación de esta estructura; pues, aunque los núcleos desaparecen hacia el estadio 23 Z, la orientación del corte histológico nos muestra la incorporación de las fibras secundarias a partir de las células ecuatoriales del epitelio anterior y a ese nivel los núcleos son visibles en fases avanzadas del desarrollo.

El cristalino presenta una buena estructura histológica, pues no tiene conflicto de espacio con el sistema nervioso central y su relación con la retina y el epitelio pigmentado es muy similar a la que se observa en condiciones normales (embriones control).

2.3.3. RETINA Y EPITELIO PIGMENTADO

El epitelio pigmentado se ha desarrollado también en los 7 injertos del Método C.

Es comprensible que la manipulación excesiva afecte en mayor grado a las estructuras más complejas como la retina, que a las más simples como el epitelio pigmentado. Si a esto añadimos que en los embriones O-288 y O-259 las vesículas ópticas fueron injertadas entre los estadios 8 y 9 Z respectivamente, parece lógica la ausencia de retina en ambos casos.

Sin embargo, en el embrión O-310 sí se ha desarrollado la retina, pero aunque se injertó en el estadio 9 Z ha crecido rodeada por el epitelio pigmentado y por lo tanto aislada del mesénquima (figuras 7 y 8). Ya hemos mencionado como varios investigadores consideran que la retina se diferencia a partir de la capa de la vesícula óptica que crece aislada del mesénquima (LOPASHOV, 1948 y 1960; STROEVA, 1956; ORTS LLORCA y GENIS GALVEZ, 1960).

Pensamos que la presencia de retina en el injerto del embrión O-260 (figura 6) es normal, si tenemos en cuenta que la vesícula óptica se injertó en el estadio 10 Z; por lo que su pared distal está más diferenciada que en el estadio 8 y 9 Z de los embriones anteriores.

En este embrión, la retina alcanza un mayor desarrollo histológico en las zonas donde se relaciona con el epitelio pigmentado. En el embrión O-310, también se aprecia este

detalle, pero solamente en aquellas regiones donde el epitelio pigmentado está más desarrollado (figuras 8 y 9). Estas observaciones coinciden con las afirmaciones de COULOMBRE (1956a), FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974).

La retina correspondiente al injerto del embrión 0-173 (figuras 7 y 8), muestra un desarrollo similar a la retina del estadio teórico que debería haber alcanzado (1+, figuras 4 y 5); sin embargo, carece de interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado.

La presencia de los pliegues retinianos y su menor desarrollo histológico, guarda cierto parecido con los resultados obtenidos por WEISS y AMPRINO (1940), COULOMBRE (1956a) y JIMENEZ COLLADO (1977), cuando experimentalmente provocan una disminución de la presión intraocular.

Aunque en este injerto se han diferenciado los procesos ciliares (figuras 4 a 6) y por lo tanto existe secrección del humor acuoso, éste es incapaz de mantener un tono ocular adecuado ya que el globo ocular no ha crecido formando un compartimento estanco. Esto ha provocado, no sólo la presencia de pliegues retinianos sin el apoyo del epitelio pigmentado, sino que los propios pliegues de los procesos ciliares son más pronunciados.

El injerto del embrión 0-263, no solamente ha crecido orientado hacia el interior de la cavidad craneal, sino que la retina y el epitelio pigmentado se han desarrollado dentro y

fuera del globo ocular, sobrepasando los límites del orificio que forma el cartilago escleral.

En el interior del globo ocular, la retina (figuras 8 y 10) presenta un aspecto similar a la retina de los estadios teóricos que debería haber alcanzado (33 Z y 1+, figuras 4 y 5 en ambos), pero con pocas células ganglionares. Sin embargo, en las zonas donde no ha perdido el contacto con el epitelio pigmentado se observan interdigitaciones entre los artículos externos de los fotorreceptores y las células del epitelio pigmentado, que recuerdan a las que se ven en el embrión control 1+ (figura 5).

Esta circunstancia que no se aprecia en el embrión O-173, a pesar de que su retina presenta un mayor grado de diferenciación (según el estadio teórico alcanzado), puede tener un doble origen. En primer lugar, en el embrión O-263 la retina se ha desarrollado con una presión intraocular adecuada; y en segundo término, el injerto ha crecido en la superficie del receptor, por lo tanto es más probable que la retina haya sido influenciada por el estímulo luminoso. Creemos que estas características marcan la diferencia entre ambos embriones en relación a las interdigitaciones.

Mucho mayor interés tiene analizar la retina que ha crecido fuera del globo ocular, pero dentro de la cavidad craneal (figuras 9, 11 y 12).

En algunas regiones ha alcanzado un desarrollo histológico similar al estadio control 33 Z (figuras 4 y 5) con los fotorreceptores perfectamente diferenciados, pero con pocas células ganglionares y sin capa de fibras ópticas.

Queremos destacar que en esas zonas la retina no tiene el soporte del epitelio pigmentado (figuras 7 y 12). Este detalle no coincide con los resultados de FUJISAWA (1971) y FUJISAWA y cols. (1974), cuando observan la ausencia de fotorreceptores en la retina que crece sin el epitelio pigmentado.

Es necesario aclarar que estos autores injertan exclusivamente células disociadas de retina en corioalantoides y en nuestros embriones, la retina se relaciona con el sistema nervioso central y el líquido cefalorraquídeo. Además existe epitelio pigmentado, aunque se encuentre lejos de esas zonas.

La retina desarrollada fuera del globo ocular, presenta gran cantidad de pliegues (figuras 3, 4 y 17) y en algunas zonas se une, sin solución de continuidad, con el sistema nervioso central del receptor (figuras 7, 13, 18 y 19).

Los pliegues que presentan una menor diferenciación histológica se han formado: Por el gran espacio que tiene la retina para crecer, por la ausencia de una estructura cartilaginosa (esclera) que limite el crecimiento en extensión y porque los procesos ciliares diferenciados fuera del globo ocular (figura 4 y 11) no pueden mantener un tono adecuado.

Después de los trabajos ya mencionados de HEATON (1973) y ALVARADO-MALLART y SOTELO (1984), no es de extrañar que ambas estructuras contacten entre sí, a pesar de pertenecer a especies diferentes.

En los injertos se han desarrollado otras estructuras:

- Músculos oculares extrínsecos en los embriones O-213 (figura 6) y O-263 (figuras 14 y 16).

- Pico en el O-213 (figuras 1 y 5) y O-260 (figuras 1 y 4).

- Plumas en el interior de la cavidad craneal en el O-288 (figuras 3, 4, 6 y 7) y O-310 (figuras 4 y 5).

- Estructuras con aspecto histológico de tejido nervioso en el O-259 (figuras 3 a 6) y O-263 (figuras 14 y 15).

- Tejido óseo y/o cartilaginoso cuya morfología no recuerda a la esclera en el O-213 (figura 14), O-259 (figuras 3 a 6), O-310 (figuras 6 y 7), O-260 (figuras 3 y 5) y O-263 (figuras 3, 14 y 15).

- Una estructura de aspecto glandular en el O-263 (figuras 17 y 18).

La presencia de estas estructuras puede justificarse sobre todo por la inclusión, con la vesícula óptica, de tejido prospectivo de cada una de ellas. Aunque en menor medida, creemos que la localización del injerto en el Método C puede influir; pues en la cavidad craneal existe un menor conflicto de espacio que favorece el crecimiento de las estructuras.

El desarrollo, entre las estructuras nerviosas, de una cavidad tapizada por tejido dérmico y rellena de esbozos pigmentados de plumas, se observa en los embriones O-288 y O-310. Ambos están incluidos en el grupo donde hubo una excesiva manipulación del injerto, de la que también es patente la desorganización del resto de estructuras oculares.

2.3.4. EMBRIONES O-227 Y O-230

Los embriones O-227 y O-230 (figuras 1 y 2 en ambos) presentan una microftalmía izquierda, pero no hay señales del injerto, excepto el desarrollo de algunos esbozos pigmentados de plumas y una ligera pigmentación del borde libre de los esbozos palpebrales izquierdos.

En el estudio microscópico se observa un acúmulo de pigmento que corresponde a un plegamiento de epitelio pigmentado en el ojo microftálmico de ambos embriones (O-227, figuras 4 y 5; O-230, figuras 4 a 7).

BENITEZ RUBIO (1986), en su extenso trabajo sobre malformaciones provocadas por la ligadura de las venas vitelinas derechas e izquierdas, utiliza algunos embriones de pollo pertenecientes a la raza Shaver blanca, y afirma que el porcentaje de microftalmías espontáneas en esta raza, es aproximadamente del 1%.

Son varios los factores que pueden provocar malformaciones oculares.

GRABOWSKI y PAAR (1958) obtienen, pero no describen, malformaciones oculares tras provocar una hipoxia durante el periodo de incubación del embrión de pollo.

DE LA CRUZ y cols. (1966), aumentan experimentalmente la temperatura de incubación (aproximadamente 2° C) y observan malformaciones oculares.

La pérdida de flujo sanguíneo en embriones de pollo de menos de 2 días de incubación es para RYCHTER y LEMEZ (1963) el origen de las microftalmías que obtienen ORTS LLORCA y cols. (1959), cuando ligan las venas vitelinas izquierdas.

En nuestro caso ambos embriones pertenecían a una misma puesta, se utilizaron el mismo día y fueron operados con el Método C en el que no existe el riesgo de pérdida de sangre. Además, fueron los únicos supervivientes pues el resto presentaban tal grado de reabsorción que era imposible distinguir estructuras embrionarias.

Por todo lo expuesto creemos que las microftalmías fueron espontáneas.

Sin embargo, a pesar de no presentar estructuras oculares procedentes del injerto, los hemos incluido por el plegamiento del epitelio pigmentado situado en la misma zona del ojo microftálmico. También se observa un defecto en el desarrollo histológico de la retina neurosensorial que se encuentra en frente del epitelio pigmentado alterado.

No hemos encontrado descritas este tipo de alteraciones en ojos microftálmicos y tampoco pensamos que puedan estar relacionadas con la técnica quirúrgica.

Sin embargo, la presencia de esbozos pigmentados de plumas en el lado izquierdo es comprensible pues el ectodermo del injerto (única estructura que prendió), con el crecimiento, se desplazó de la línea media a la izquierda por el menor tamaño del ojo izquierdo.

CONCLUSIONES

Para el correcto análisis de los resultados experimentales, es necesario establecer una serie de referencias respecto al desarrollo normal macro y microscópico del globo ocular del embrión de codorniz y el estudio experimental.

DESARROLLO NORMAL DEL GLOBO OCULAR DEL EMBRION DE CODORNIZ:

1. El primer esbozo de la placoda cristaliniana surge en el estadio 10 Z (16 pares de somitos).

2. La invaginación de la vesícula óptica primaria y de la placoda cristaliniana se puede observar ya en el estadio 12 Z (22 pares de somitos).

3. Los primeros indicios macro y microscópicos de pigmentación aparecen en el estadio 16 Z.

4. En el estadio 24 Z, es posible distinguir todas las capas de la retina.

5. La diferenciación del pecten en el embrión de codorniz (E: 17 Z), se inicia antes que en el embrión de pollo (E: 26 HH -> 19 Z). Sin embargo, el desarrollo se completa más tarde en el embrión de codorniz (E: 28-30 Z) que en el embrión de pollo (E: 37-40 HH -> 25-28 Z).

6. En el estadio 23 Z, hemos observado los esbozos de las membranas de Bowman y de Descemet que separan el estroma corneal del epitelio y endotelio, respectivamente.

7. Los primeros pliegues de los procesos ciliares, se observan en el estadio 24 Z.

ANALISIS EXPERIMENTAL DE LOS HETEROINJERTOS:

8. Los injertos de vesículas ópticas de embriones de codorniz comprendidos entre los estadios 10 a 13 Z, en mesénquima periocular de embriones de pollo entre los estadios 17 a 21 HH (Método A), son los que ofrecen mayores porcentajes de éxito; entendiendo como éxito el desarrollo macro y microscópico de dos o más estructuras oculares procedentes del injerto, y pueden servir como base para estudios en este campo.

9. Para aumentar la viabilidad de los injertos, en todos los métodos, es necesario evitar que se hidrate durante la realización de la técnica; ello se consigue preparando el embrión receptor antes que el donante.

10. En general, existe un retraso en el desarrollo cronológico y en el crecimiento de los injertos con relación al estadio teórico que deben alcanzar. La mayor parte del retraso tiene su origen en el periodo de latencia provocado por los pasos quirúrgicos.

11. Para la morfogénesis normal de la córnea, es necesaria la presencia de tejido mesodérmico adyacente, aunque pertenezca al receptor y la correcta relación con el epitelio anterior del cristalino. Por otro lado, es necesario que la presión intraocular ejerza, desde que aparece el primer esbozo, una acción específica sobre la córnea; que vendrá condicionada por la correcta estructuración del globo ocular y los tejidos perioculares.

12. En ausencia de tejido mesodérmico en el injerto, las células mesodérmicas del embrión receptor participan en la morfogénesis corneal, formando parte ya sea del epitelio, del estroma o de ambos.

13. Confirmamos que en los injertos de estadios precoces del desarrollo (10+ a 12+ Z), existe regeneración del cristalino, a partir de los bordes de la vesícula óptica (regeneración de WOLFF). La capa externa de la vesícula óptica (Epitelio Pigmentado), da lugar al epitelio anterior del cristalino y la capa interna (Retina), a las fibras cristalinianas.

14. El contacto de la retina con el cristalino modifica la disposición de los núcleos de las fibras primarias; ya que en el punto donde contactan ambas estructuras, se orientan en sentido contrario.

15. En los injertos, el cristalino se ha desarrollado en ausencia de retina y epitelio pigmentado; pero su morfología es atípica.

16. La presión intraocular es un factor que influye en la morfología normal del cristalino, retina y epitelio pigmentado, según hemos podido comprobar estudiando los casos en los que el injerto se desarrolló independientemente de las demás estructuras perioculares.

17. La capa externa de la vesícula óptica y posteriormnte el epitelio pigmentado, se transforma en retina neurosensorial. Normalmente esta característica la observamos cuando la capa externa se relaciona con el mesénquima periocular.

18. Los fotorreceptores de la retina pueden diferenciarse en ausencia del epitelio pigmentado; aunque para ello es necesario que la capa interna de la vesícula óptica se relacione con el sistema nervioso central y/o con el líquido cefalorraquídeo del receptor.

19. Las células ganglionares y sus axones (fibras ópticas) se diferencian cuando la retina del injerto se une con el sistema nervioso central del receptor.

20. En los injertos obtenidos de estadios precoces del desarrollo, pueden diferenciarse estructuras del embrión donante no relacionadas con el globo ocular. Su presencia se debe a la inclusión de tejidos próximos a la vesícula óptica.

21. No hemos observado la salida neta del nervio óptico en ninguno de los embriones quimera, excepto en el O-213. En este embrión, el nervio óptico se pierde en el interior de una estructura nerviosa cuyo origen no hemos podido determinar. El desarrollo del nervio óptico en este caso, creemos que es debido a la cantidad de material donante, que posiblemente incluía sistema nervioso central. Además, es el único injerto donde hemos observado el desarrollo del pecten.

BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER L.E.:

An experimental study of the role of the optic cup and overlying ectoderm in lens formation in the chick embryo. J. Exp. Zool., 1.937; 75:41-68.

ALFONSO SANCHEZ J.F.:

Análisis del desarrollo de la vía óptica en el embrión de pollo. Técnica de la H.R.P.
Tesis Doctoral, Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1.987.

ALVARADO-MALLART R.M. y SOTELO C.:

Homotopic and heterotopic transplantations of quail tectal primordia in chick embryos: Organization of the retino-tectal projections in the chimeric embryos. Develop. Biol., 1.984; 103:378-398.

AMPRINO R.:

Ricerche sperimentali sulla morfogenesi del cristallino nell'embrione di pollo. Induzione e rigenerazione. Arch. Entwmech. Organ., 1.949a; 144:71-80.

AMPRINO R.:

Indipendenza della differenziazione istologica e della morfogenesi del cristallino. Arch. Entwmech. Organ., 1.949b; 144:81-87.

ANGELUCCI D.R.:

Über entwicklung und ban des vorderen uvealtractus der vertebrates. Av. F. Mikr. Anat., 1.881; 19:16

BABUCHIN F.:

Beiträge zur entwicklung des auges. Wurzburger Naturwissensch. Zeitschr, 1.863; 4

BACSICH P. y GELLERT A.:

Beiträge zur Kenntnis der Struktur und Funktion des pecten im Vogelauge. Arch. Ophthalmol. Graefe's, 1.935; 133:448-460.

BALINSKY BI.:

On the factors controlling the size of the brain and eyes in anuran embryos. J. Exp. Zool., 1.958; 139:403-442.

BALINSKY BI.:

Desarrollo de los ojos.
En: Introducción a la Embriología. Ediciones Omega S.A.. Barcelona 1.983; pp 413-421.

BALINSKY BI. y WALTHER H.:

The immigration of presumptive mesoblast from the primitive streak in the chick as studied with the electron microscope.

Acta Embryol. Morph. Exp., 1.961; 4:261-283.

BARD J.B.L., HAY E.D. y MELLER S.M.:

Formation of the endothelium of the avian cornea: A study of cell movement *in vivo*.

Dev. Biol., 1.975; 42:334-361.

BARFURTH D. y DRAGENDORFF O.:

Versuche über regeneration des auges und der linse beim hühnerembryo.

Anat. Anz., 1.902; 21:185-200.

BEAULATON J. y LOCKSHIN R.A.:

The relation of programmed cell death to development and reproduction: Comparative studies and an attempt at classification.

Intl. Rev. Cytol., 1.982; 79:215-235.

BENITEZ RUBIO M.R.:

Análisis experimental de la influencia del factor hemodinámico en la septación cardiaca: Supresión del flujo a través de los vasos vitelinos.

Tesis Doctoral, Facultad de Medicina Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1.986.

BIANCHI L.:

Alcuni dati sullo sviluppo della cornea del pollo.

Atti. Soc. Ital. Anat., Monit. Zool. Ital. Suppl., 1.932; 42:117-119.

BLOCHMANN F. y HUSEN E. von:

Ist der Pecten des Vogelanges ein Sinnesorgan?.

Biol. Zentralbe, 1.911; 31:150-156.

BOYDSTON W.R. y SOHAL G.S.:

Grafting of additional periphery reduces embryonic loss of neurons.

Brain Res., 1.979a; 178:403-410.

BOYDSTON W.R. y SOHAL G.S.:

Prevention of embryonic cell death, after transplantation of an additional optic vesicle.

Anat. Rec., 1.979b; 193:161 (abstract).

BRINI A.:

L'apparition du pigment dans la choroïde.

Bull. Soc. Franc. Ophtal., 1.949; 474.

BRINI A., PORTE A. y STOECKEL M.E.:
Etude au microscope électronique de quelques problèmes
d'embryologie oculaire chez l'embryon de poulet a des
stades précoces.
Bull. Soc. Franc. Ophtal., 1.962; 75:192-201.

BRINI A., PORTE A. y STOECKEL M.E.:
Développement des structures bordant de chambre antérieure
chez l'embryon de poulet. Etude au microscope
électronique.
Bul. Soc. Franc. Ophtal., 1.965; 78:263-277.

BRINI A., PORTE A. y STOECKEL M.E.
Développement de la cornée chez l'embryon de poulet.
Etude au microscope électronique.
Doc. Ophtal., 1966; 20: 309-332.

BURCH H.C.:
Técnica Histológica.
Editorial Paz Montalvo. Madrid 1.969.

COHEN A.I.:
Electron microscopic observations of the developing mouse
eye. I. Basement membranes during early development and
lens formation.
Dev. Biol., 1.961; 3:297-316.

COLLIN:
Premiers stades du développement du m. sphincter de
l'iris chez les oiseaux.
C.R. Soc. Biol., 1.903; 55:1055.

CONSTANTINE-PATON M. y CAPRANICA R.R.:
Axonal guidance of developing optic nerve in the frog.
I. Anatomy of the projections from transplanted eye
primordia.
J. Comp. Neurol., 1.976a; 170:17-31.

CONSTANTINE-PATON M. y CAPRANICA R.R.:
Axonal guidance of developing optic nerve in the frog.
II. Electrophysiological studies of the projection from
transplanted eye primordia.
J. Comp. Neurol., 1.976b; 170:33-52.

CONSTANTINE-PATON M. y LAW M.I.:
Eye-specific termination bands in tecta of three-eyed
frogs.
Science, 1.978; 202:639-641.

CONSTANTINE-PATON M. y LAW M.I.:
Desarrollo de mapas y bandas en el cerebro.
Invest. y Ciencia, 1.983:30-39.

COULOMBRE A.J.:
Correlation of structural and biochemical changes in the
developing retina of the chick.
Amer. J. Anal. 1.955; 9:153-190.

COULOMBRE A.J.:
The role of intraocular pressure in the development of the
chick eye. I. Control of eye size.
J. Exp. Zool., 1.956a; 133:211-225.

COULOMBRE A.J.:
The eye. En: "Organogenesis". Dehaan and Urprung. Holz
Rinehart and Winston. New York, Chicago, 1.956b.

COULOMBRE A.J.:
The role of intraocular pressure in the development of the
chick eye. II. Control of corneal size.
Arch. Ophthalmol., 1.957; 57:250-253.

COULOMBRE A.J.:
Problems in corneal morphogenesis.
Adv. Morphogenesis, 1.965; 4: 81-109.

COULOMBRE A.J.:
The eye. En: "Organogenesis". Dehaan and Ursprung. Holt
Rinehart and Winston. New York, Chicago, San Francisco,
Toronto, Londres. 1.966.

COULOMBRE A.J. y COULOMBRE J.L.:
The role of intraocular pressure in the development of the
chick eye. IV. Corneal curvature.
Arch. Ophthalmol., 1.958; 59:502-506.

COULOMBRE A.J. y COULOMBRE J.L.:
The development of the structural and optical properties
of the cornea.
En: "The structure of the eye" (Academic press, New
York), 1.961:405-420.

COULOMBRE A.J. y COULOMBRE J.L.:
Growth of the lens of the embryonic chick eye.
Anat. Rec., 1.963; 145:219.

COULOMBRE J.L. y COULOMBRE A.J.:
Regeneration of neural retina from pigmented epithelium in
the chick embryo.
Dev. Biol., 1.965; 12:79-92.

COWAN W.M., ADAMSON L. y POWELL T.P.S.:
An experimental study of the avian visual system.
J. Anat., 1.961; 95:545-563.

DABAGHIAN N.V.:
The role of the mesenchyme in the development of pigmented epithelium of the eyes in *Acipenser güldenstädti*.
Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 1.958; 119:391-394.

DANCHAKOFF V.:
Grafts in allantois of embryonic anlagen of the chick.
Anat. Rec., 1.922; 23:14 (abstract).

DANCHAKOFF V.:
Wachstum transplanterter embryonader gewebe in der allantois.
Zeitschr. Anat. Entwck., 1.924; 74:401-431.

DANCHAKOFF V.:
Lens ectoderm and optic vesicles in allantois grafts.
Contrib. Embryol. (Carnegie Inst.), 1.926; 18:65-78.

DEJEAN C.:
Embryologie des diverses parties de l'appareil oculaire.
I. Développement de corps vitré et de la zonule de Zinn.
II. Développement du cristallin.
Traité Ophtalmol., 1.939; 1:128

DEJEAN C., HERVOVET F. y LEPLAT G.:
Embryologie du corps vitré.
En: L'embryologie de l'oeil et sa tératologie.
Masson. Paris, 1.958; 220-308.

DE LA CRUZ M.V., CAMPILLO-SAINZ C., MUÑOZ-ARMAS S.,
PALLARES G. y ZAMUDIO-BANDERA R.:
congenital heart defects in chick embryos subjected to temperature variations.
Circ. Res., 1.966; 18:257-262.

DELONG G.R. y COULOMBRE A.J.
The specificity of retino-tectal connections studied by retinal grafts onto the optic tectum in chick embryos.
Develop. Biol., 1.967; 16:513-531.

DETWILLER S.R.:
On the hiperplasia of nerve centers resulting from excessive peripheral loading.
Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.), 1.920; 6:96-101.

DORRIS F.:

Differentiation of the chick eye *in vitro*.
J. Exp. Zool., 1.938a; 78:385-416.

DORRIS F.:

The production of pigment *in vitro* by chick neural crest.
Arch. F. Entwmech., 1.938b; 138:323-334.

DORRIS F.:

The production of pigment by chick neural crest in grafts to the 3 day limb bud.
J. Exp. Zool., 1.939; 80:315-345.

DRAGOMIROV N.:

Über die entwicklung von augenbecher aus transplantierten stückchen embrionalen tapetum.
Roux. Arch. Entwmech., 1.932; 126:636-662.

DUKE-ELDER S.S.:

En: "System of ophthalmology". Vol. I: The eye in evolution.
Kimpton, London 1.958.

EGUCHI G.:

In vitro analisis of wolffian lens regeneration: Differentiation of the regenerating lens rudiment of the newt. *Triturus pyrrhogaster*.
Embryologia, 1.967; 9:246-266.

FERNANDEZ-VEGA L.:

Morfogénesis de la cámara anterior en especímenes humanos. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1.978.

FISCHEL A.:

Über die Regeneration der linse.
Anat. Hefte., 1.900; 14.

FISCHEL A.:

Über den Einfluss des Auges auf die Entwicklung und Erhaltung de Hornhaut.
Klin. Mbl. Augenheilk, 1.919; 62:1-5.

FRANCOIS J., RABAEY M. y LAGASSE A.:

Electron microscopic observations on the choroid, pigment epithelium and pecten of the developing chick in relation to melanin synthesis.
Ophthalmol., 1.963; 146:415-431.

FRANZ V.:

Dar Pecten der Fächer im Auge der Vögel.
Biol. Zentralblatt Bd., 1.908; 66.

FRANZ V.:

Die Akkommodation des Selachieranges und seine
Abblendungsapparate nebst Befunden und der Retina.
Zool. Jahrb. (Abt. Allg. Zool. Physio., Tiere),
1.931; 52:118-178.

FRORIEP A.:

Die Entwicklung des Auges der Wirbeltiere.
Handb. Entwicklungslehre Wirb., 1.906; 2:1-7.

FUSISAWA H.

A complete reconstruction of the neural retina of chick
embryo grafted onto the chorio-allantoic membrane.
Dev. Growth Differ., 1.971; 13:25-36.

FUJISAWA H., NAKAMURA H. y CHIN M.:

The fine structure of the reconstructed neural retina of
chick embryos.
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.974; 31:139-149.

FUJITA S. y HORII M.:

Analysis of cytogenesis in chick retina by tritiated
thymidine autoradiography.
Arch. Histol. Jap., 1.963; 23:359-366.

GARCIA-PORRERO, J.A.; COLLADO J.A. y OJEDA J.L.:

Cell death during detachment of the lens rudiment from
ectoderm in the chick embryo.
Anat. Rec., 1.979; 163:791-804.

GARCIA-PORRERO, J.A.; COLVÉE E. y OJEDA J.L.:

The mechanisms of cell death and phagocytosis in the early
chick lens morphogenesis: A S.E.M. and cytochemical
approach.
Anat. Rec., 1.983 (in press).

GARCIA-PORRERO, J.A.; COLVÉE A. y OJEDA J.L.:

Cell death in the dorsal part of the chick optic cup.
Evidence for a new necrotic area.
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.984; 80:241-249.

GARCIA-PORRERO J.A. y OJEDA J.L.:

Cell death and phagocytosis in the neuroepithelium of the
developing retina. A T.E.M. and S.E.M. study.
Experientia, 1.979; 35:375-376.

GAYER K.:

A study of coloboma and other abnormalities in transplant of eye primordia from normal and creeper chick embryos. J. Exp. Zool., 1942; 89:103-145.

GENIS GALVEZ J.M.:

1962. Citado por ORTOS LLORCA en "Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular". 1975.

GENIS GALVEZ J.M.:

Role of the lens in the morphogenesis of the iris and cornea.

Nature (London), 1966; 210:209-210.

GENIS GALVEZ J.M., CASTRO J.M. y BATTANER E.:

La importancia biológica del cristalino.

Arch. Soc. Oftalmol. Hisp-amer., 1968; 28:69-111.

GENIS GALVEZ J.M., SANTOS L. y RIOS A.:

Causal factors in corneal development. An experimental analysis in the chick embryo.

Exp. Eye Res., 1967; 6:48-56.

GLÜCKSMANN A.:

Cell death in normal vertebrate ontogeny.

Biol. Rev., 1951; 26:59-86.

GRABOWSKI C.T. y PAAR J.A.:

The teratogenic effects of graded doses of hypoxia on the chick embryo.

Am. J. Anat., 1958; 103:313-347.

HAGEDOORN A. von:

The early development of the endothelium of Descemet's membrane, the cornea and the anterior chamber of the eye.

Brit. J. Ophthalmol., 1928; 12:479-495.

HAMBURGER V. y HAMILTON H.L.:

A series of normal stages in the development of the chick embryo.

J. Morphol., 1951; 88:49-92.

HAMILTON H.L.:

Lillie's development of the chick.

Holt, Rinehart and Winston, New York. 1952.

HARRISON J.R.:

In vitro analysis of differentiation of retina pigment in the developing chick embryo.

Anat. Rec., 1952; 113:557.

HARRISON R.G.:

Correlation in the development and growth of the eye studied by means of heteroplastic transplantation. Roux. Archiv., 1.929; 120:1-55.

HARRISON R.G.:

Heteroplastic grafting in embryology. Harvey Lect., 1.935; 29:1933-1934.

HAY E.D.:

Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo.

En: "Epithelial-Mesenchymal Interactions". (Fleischmajer R. y Billingham R.E., eds.) Williams & Williams. Baltimore, 1.968; pp 31-35.

HAY E.D. y REVEL J.P.:

Fine structure of the developing avian cornea.

En: "Monographs in Dev. Biol". (Wolsky A. y Chen P.S., eds.). S. Karger. Basel, 1.969; vol. 1.

HEATON M.B.:

Xenoplastic eye transplantation between chick and quail embryos: Some neuroanatomical and functional aspects.

J. Comp. Neurol., 1.973; 151:359-376.

HERINGA G.C. y LOHR H.A.:

Sur la nature et la genese des fibres collagènes.

Bull. Histol., 1.926; 3:125-141 y 201-211.

HILFER S.R.:

Development of the eye of the chick embryo.

Scand. Electron Microsc., 1.983; 3:1353-1369.

HINCHLIFFE J.R.:

Cell death in embryogenesis.

En: "Cell Death in Biology and Pathology". Ed. Bowen y Lockshin. London: Chapman y Hall. 1.981:35-78.

HOADLEY L.:

The independent differentiation of isolated chick primordia in chorioallantoic grafts. 1. The eye, nasal region, optic nerve and mesencephalon.

Biol. Bull., 1.924; 46:281-315.

HOLLYDAY H. y HAMBURGER V.:

Reduction of naturally occurring motor neuron loss by enlargement of the periphery.

J. Comp. Neurol., 1.976; 170:311-320.

- HORDER T.J. y MASHKAS A.:
The developmental program for retinal embryogenesis with special reference to the chick.
Bibliotheca Anat. (Switzerland), 1.982; 0:102-123.
- HUGHES W.F. y LAVELLE A.:
On the synaptogenic sequence in the chick retina.
Anat. Rec., 1.974; 179:297-301.
- HUGHES W.F. y LAVELLE A.:
The effects of early tectal lesions on development in the retinal ganglion cell layer of chick embryos.
J. Comp. Neurol., 1.975; 163:265-284.
- HUNT T.E.:
An experimental study of the independent differentiation of the isolated Hensen's node and its relation to the formation of axial and not axial parts in the chick embryo.
J. Exp. Zool., 1.931; 59:395-427.
- HUSCHKE E.:
Über die erste Entwicklung des Auges und die damit zusammenhängen de Cyklopie.
Meckel's Arch. Anat. Physiol., 1.832; 6:1-47.
- HUSCHKE E.:
Comentatio de pectinis in oculo avium potestate anatomica et physiologica.
Jena, 1.827.
- IKEDA Y.:
Über die wechselscitigen bezichungen der sinnesorgane untereinander in ihrer normalen und experimentell bedinglan Entwicklung.
Arb. Anat. Inst. Sendai, 1.938; 21:1-44.
- JACOBSON A.G.:
The roles of the optic vesicle and other hear tissues in lens induction.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1.955; 41:522-525.
- JIMENEZ COLLADO J.:
Regulation of intraocular pressure mechanism morphogenetics.
Enviado a: Acta Anat., 1.977.
- JIMENEZ COLLADO J. y PUCHADES ORTS A.:
Homoinjertos de vesícula óptica en embriones de aves.
Comunicación del IX Congr. Soc. Anat. Esp. y Luso-Hisp.
Oporto, 1.973.

JIMENEZ COLLADO J. y PUCHADES ORTS A.:
Does the mesencephalon exert an attraction with respect to
the fibres of the optic nerve. Experimental analysis.
Trabajos Inst. Embriol., 1.983; vol.I, nº2:28-31.

JIMENEZ COLLADO J., PUCHADES ORTS A., RUIZ MORENO J.E. y
SOBRADO PEREZ J.:
L'analyse experimentale de la capacite du mesencephale
pendant le développement et la differentiation du nervoux
opticus.
Trabajos Inst. Embriol., 1.981, 1.

JIMENEZ COLLADO J., PUERTA FONOLLA A.J., FDEZ-VEGA L. y
CARCELES J.A.:
Injertos de vesícula óptica en embriones de aves.
Arch. Soc. Esp. Oftalmol., 1.978; 38:1275-1288.

JOHNSON M.L.:
Visual cells of the amphibian retina in absence of the
epithelial pigment layer.
Anat. Rec., 1.935; 63:53-75.

KAHN A.J.:
An autoradiographic analysis of the time of appearance of
neurons in the developing chick neural retina.
Dev. Biol., 1.974; 38:30-40.

KAHN A.J.:
Ganglion cell formation in the chick neural retina.
Brain Res., 1.973; 63:285-290.

KARKINEN-JAASKELAINEN M.:
Permissive and directive interactions in lens induction.
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.978; 44:167-179.

KEIBEL F. y ABRAHAM K.:
Normentafel zur Entwicklungsgeschichte des Huhnes (*Gallus
domesticus*).
En: "Normentafel zur Entwicklungsgeschichte der
Wirbeltiere". F. Keibel, Fischer, Jena 1.900.

KESSLER L.:
Zur Entwicklung des Auges der Wirbelthiere.
F. C. W. Vogel Leipzig, 1.877.

KNAPE E.V. von:
Über die Entwicklung der Hornhaut des Hühnchens.
Anat. Anz., 1.909; 34:417-424.

KUSAGAWA S.:

Über die experimentelle erzeugung angeborenem star bei hühnern und seine vererbung.

Graeph. Arch. Ophtal., 1.927; 118:401-422.

LADIJENSKI V. DE:

Sur l'evolution de la structure fibrillaire de la cornée chez l'embryon de poule.

Compt. Rend. Soc. Biol., Paris, 1.915; 78:307-308.

LAGUESSE E.:

Sur le membrane vitrée sous-épidermique.

C. R. de Biol., 1.919; 82:438-443.

LANGUESSE E.:

Development de la cornée chez le poulet. Role du mesostroma; son importance generale, les membranes basales.

Arch. Anat. Microsc., 1.926; 22:216-265.

LANGMAN J.:

The appearance of specific antigens during development of the lens.

En: "The shucture of the eye". Ed: G.K. SMELSER Acad. press, New York; 1.961:235-247.

LASH :

1.963, citado por ORTS LLORCA en "Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular". 1.975.

LAW M.I. y CONSTANTINE-PATON M.:

Alternating retinal ganglion cell termination bands in doubly innervated frog optic tecta.

Neurosci., 1.978; 4:118.

Le DOUARIN N.:

Particularites du noyan interphasique chez la caille japonaise. (*Coturnix coturnix japonica*).

Bull. Biol. Fr. Belg., 1.969; 103:435-452.

Le DOUARIN N.:

Caractéristiques ultrastructurales du noyau interphasique chez la caille (*Coturnix coturnix japonica*) et le poulet (*Gallus gallus*) par le méthode de coloration régressive à l'EDTA.

C.R. Hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris, 1.971; 272:2337-2384.

Le DOUARIN N.:

A biological cell labelling technique and its use in experimental embriology.

Dev. Biol., 1.973; 30:217-222.

Le DOUARIN N. y TEILLET M.A.:
Experimental analysis of the migration and differentiation
of neuroblasts of the autonomic nervous system and of
neurectodermal mesenchymal derivatives, using a biological
cell marking technique.
Dev. Biol., 1.974; 41:162-184.

Le DOUARIN N., RENAUD D., TEILLET M.A. y Le DOUARIN G.:
Cholinergic differentiation of presumptive adrenergic
neuroblast in interspecific chimeras after heterotopic
transplantations.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1.975; 72:728-732.

Le LIEVRE C. y Le DOUARIN N.:
Mesenchymal derivatives of the neural crest: Analysis of
chaemic quail and chick embryos.
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.975; 34:125-254.

Le LIEVRE C., SCHWEIZER G.G. y ZILLER C.M.:
Restrictions of developmental capabilities in neural
crest cell derivatives as tested by *in vivo*
transplantation experiments.
Dev. Biol., 1.980; 77:362-378.

LENHOSSEK M. VON:
Die entwicklung und beieutung der zonula-fasern nach
untersuchongen am huhnchen.
Arch. Mik. Anat. Entwickl., 1.911; 77:280-310.

LEPLAT G.:
Sur quelques point d'embryologie de l'oeil des oiseaux.
C. R. Ass. Anat., 1.911, 13.

LEPLAT G.:
Développement et structure de la membrane vasculaire de
l'oeil des oiseaux.
Arch. Biol., 1.912; 27:403-524.

LEPLAT G.:
Embryologie de l'appareil oculaire, developpment générale
de l'appareil visual.
Traité Ophtalmol., 1.939; 1:87.

LEWIS M.R. y LEWIS W.H.:
The growth of embryonic chick tissues in artificial
media, agar and Bouillon.
Johns Hopkins Hosp. Bull., 1.911a; XXII, 241.

LEWIS M.R. y LEWIS W.H.:

The cultivation of tissues from chick embryos in solutions of NaCl, CaCl₂, KCl and NaHCO₃.

Anat. Rec., 1.911b, V.

LEWIS W.H.:

Wandering primordiated cells arising from the epithelium of the optic cup, with observations on the origin of the sphincter pupillar in the chick.

Amer. J. Anat., 1.903; 2:405.

LEWIS W.H.:

Experimental studies on the cleavage of the eye in amphibia. I: Origin of the lens.

Amer. J. Anat., 1.904; 3:505-536.

LEWIS W.H.:

Experiments on the origin and differentiation of the optic vesicle in amphibia.

Amer. J. Anat., 1.907; 7:259.

LIEBERKHUN J.:

Über das Auge des Wirbeltierembryos.

Sitzung Marburger Naturwissensch, 1.872; X.

LILLIE F.R.:

The development of the chick.

2^a Edition. Henry Holt and Co., New York, 1.919.

LINDAHL C.:

Die Entwicklung der vorderen Augenkammer.

Anat. Hefte., 1.915; 52:195-276.

LINDAHL C. y JOKL A.:

Die Entwicklung der Sehnerveninsertion und die Anlage des Pecten bei Vögeln.

Z. Entwicklungsgeschichte, 1.922; 63:227-342.

LOPASHOV G.V.:

Significance of mesenchyme envelopes in the development of the eyes in amphibians.

Dokl. Akad. Nauk. SSSR, 1.948; 60:1281-1284.

LOPASHOV G.V.:

Developmental mechanism in eyes rudiments of vertebrate embryo.

London. Pergamon press, 1.960.

LOPASHOV G.V.:

Developmental mechanisms of vertebrate eye.

London. Pergamon press., 1.963.

LOPASHOV G.V. y STROEVA O.G.:
Morphogenesis of the vertebrate eye.
En: "Advances in Morphogenesis".(Ed. M. Abercrombie y J.Brachet). New York. Academic press, 1.961; 1:331-377.

MANGOLD O.:
Das Determinationsproblem. III. Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration.
Ergebn. Biol., 1.931; 7:193-403.

MANN I.C.:
The pecten of *Gallus domesticus*.
Quart. J. Micros. Soc., 1.924a; 68:413-442.

MANN I.C.:
The function of the pecten.
Brit. J. Ophthalmol., 1.924b; 8:209-226.

MANN I.C.:
Developpement de l'oeil human.
Clin. Ophthalmol., 1.928; 32:324-337.

MANN I.C.:
The development of the cornea.
Trans. Ophthalmol. Soc. UK, 1.931; 51:63-88.

MANN I.C.:
The development of the human eye.
Ed: Brit. Med. Ass. London, 1.949.

MARTIN C., BEAUPAIN D. y DIETERLEN-LIEVRE:
A study of the development of the hemopoietic system using quail-chick chimeras obtained by blastoderm recombination.
Dev. Biol., 1.980; 75:303-314.

MARTINEZ ALVAREZ M.C.:
Desarrollo embrionario del otocisto en heteroinjertos heteroespecificos rata-pollo.
Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1.987.

MARTINOVITCH P.N.:
Transplantation of the forebrain region in bird embryos before the establishment of a circulation: Heteroplastic Nature, 1.958; 182:572 y 589.

MARTINOVITCH P.N. y PAVLOVIC M.R.:
Transplantation of the forebrain region in bird embryos before the establishment of a circulation: Homoplastic Nature, 1.958; 182:571-572.

- McKEEHAN M.S.:
Cytological aspects of embryonic lens induction in the chick.
J. Exp. Zool., 1.951; 117:31-64.
- McKEEHAN M.S.:
A cuantitative study of self-differentiation of transplanted lens primordia in the chick.
J. Exp. Zool., 1.954; 126:157.
- McKEEHAN M.S.:
The relative ribonucleic acid content of lens and retina during lens induction in the chick.
Amer. J. Anat., 1.956; 99:131-156.
- McKEEHAN M.S.:
Induction of portions of the chick lens without contact with the optic cup.
Anat. Rec., 1.958; 132:297-306.
- McKEEHAN M.S.:
1.961. Citado por ORTS LLORCA en "Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular". 1.975.
- MEYER D.B. y O'RAHILLY R.:
The development of the cornea in the chick.
J. Embriol. Exp. Morphol., 1.959; 7:303-315.
- MIGAZZO C.:
Origine del mesostroma della cornea nell'embrione di pollo.
Monit. Zool. Ital., 1.932; 43:333-335.
- MIGAZZO C.:
Sviluppo ed istogenesis della cornea nell'embrione di pollo.
Monit. Zool. Ital., 1.935; 46:220-227.
- MIYASHITA S.:
Electron microscopic studies on the corneal of fetuses. II. The corneal stroma and Bowman's membrane of the chick embryos.
Acta Soc. Ophthal. Jap., 1.964; 68:513-525.
- MIZUNO T.:
Induction de cristallin *in vitro*, chez le poulet, en absence de la vésicule optique.
C.R. Hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris, 1.970; 271:2190-2192.

MIZUNO T. y KATOH Y.:

Immunohistological studies on lens differentiation experimentally induced *in vitro* in the epiblast of chick blastoderm.

Proc. Japan Acad., 1.972; 48:522-527.

MORRIS V.B. y COWAN R.:

A growth curve of cell numbers in the neural retina of embryonic chicks.

Cell Tissue Kinet., 1.984; 17:199-208.

MURILLO FERROL N.:

Contribución al conocimiento de la diferenciación del epitelio pigmentario de la retina.

Anal. Des., 1.964a; 12:51-61.

MURILLO FERROL N.:

Implantation heterotopica de la placode otique chez l'embryon de poulet.

Bullet. Ass. Anat., 1.964b; 49:1245-1250.

MURILLO FERROL N.:

Obtención de macroftalmías tras la interrupción de los vasos vitelinos derechos. Estudio experimental en el embrión de pollo.

Trabajos de Investigación. Becas de la Fac. Med. Madrid, 1.965; 331:341.

NAGEOTE J. y GUYON L.:

Considerations générales sur la trame collagène.

Arch. Biol., 1.931; 41:1-35.

NARAYANAN C.H.:

An experimental analysis of peripheral nerve pattern development in the chick.

J. Exp. Zool., 1.964; 156:49-60

NARAYANAN C.H. y NARAYANAN Y.:

On neural hyperplasia in the chick ciliary ganglion resulting from peripheral overloading.

Anat. Rec., 1.975: 181:434(abstract).

NARAYANAN C.H. y NARAYANAN Y.:

Neuronal adjustment in developing nuclear centers of the chick embryo following transplantation of an additional optic primordium.

J. Embryol. Exp. Morphol., 1.978a; 44:53-70.

NARAYANAN C.H. y NARAYANAN Y.:
On the origin the ciliary ganglion in birds studied by the
method of interspecific transplantation of embryonic brain
regions between quail and chick.
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.978b; 47:137-148.

NEIFACH A.A.:
The role of some form-producing relations between the
different parts of the growing cornea.
Dokl. Akad. Nauk. SSSR; 1.952; 85:1411-1414.

NUSSBAUM L.:
Die *pars ciliaris retinae* des Vögelauges.
Arch. Mikros. Anat., 1.901; 57:346-353.

NUSSBAUM L.:
Entwicklungs eschichte des menschlichen auges.
Graege Saemisch Hand. Opht., 1.908; 2:1-79.

OHKURA T.:
Electron microscope observation on Descemet's membrane
formation of the developing chick embryo.
Arch. Histol. Japan, 1.963; 22:283-294.

O'RAHILLY R.:
The development of the sclera and the choroid in staged
chick embryos.
Acta Anat., 1.962; 48:335-346.

O'RAHILLY R.:
The early development of the eye in staged human embryo.
Contr. Embriol. Washington, 1.966; 38:5-42.

O'RAHILLY R. y MEYER D.B.:
Correlation between the development of the eye and
embryonic staging in the chick.
Anat. Rec., 1.955; 121:346.

O'RAHILLY R. y MEYER D.B.:
The early development of the eye in the chick. *Gallus
domesticus* (stages 8 to 25).
Acta Anat., 1.959; 36:20-58.

O'RAHILLY R. y MEYER D.B.:
The development and histochemisty of the pecten oculi.
En: "The structure of the eye". Academic. press, New
York and London, 1.961:207-219.

ORTS LLORCA F.:

Los finos mecanismos de regulación en la morfogénesis ocular.

Discurso de ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina. Madrid 1.975.

ORTS LLORCA F. y GENIS GALVEZ J.M.:

Experimental production of retinal septa in the chick embryo. Differentiation of pigment epithelium into neural retina.

Acta Anat., 1.960a; 42:31-70.

ORTS LLORCA F. y GENIS GALVEZ J.M.:

Pliegues congénitos de la retina "retinal septa o ablatio falciformis retinal". Mecanismo patogénico.

Arch. Soc. Hisp.-amer. Oftalmol., 1.960b; 20:91-110.

ORTS LLORCA F., GENIS GALVEZ J.M. y RUANO GIL D.:

Malformations encéphaliques et microphthalmie gauche après section des vaisseaux vitellins gauches chez l'embryon de poulet.

Acta Anat., 1.959; 38:1-34.

ORTS LLORCA F. y NAVARRINA F.:

Hemiextirpación del esbozo encefálico en las aves en estadios 5, 8, 10, 11 y 13 de Hamburger-Hamilton.

Rev. Med. Galicia, 1.969; 7:395-406.

PADGETT C.A. y IVEY W.D.:

Coturnix quail as a laboratory research animal.

Science, 1.959; 129:267-268.

PANDER C.H.:

Beiträge zur Entwicklungsgeschichte de Hühnchens im Ei.

Stahel., Würzburg., 1.817.

(citado por O'RAHILLY, 1.966).

PEARSON R.:

The avian eye and vision.

En: "The avian brain". Academic press, London and New York, 1.972: 279-318.

PETIT F.:

Mem. Acad. Sci. Paris, 1.735: 123-152.

(citado por SMELSER, 1.961).

PHILPOTT G.W. y COULOMBRE A.J.:

Cytodifferentiation of precultured embryonic chick lens epithelial cells *in vitro* and *in vivo*.

Exp. Cell. Res., 1.968; 52:140-146.

PIATT J.:

Studies on the problem of nerve pattern. II. Innervation of the intact forelimb by different parts of the central nervous system in Amblystoma.

J. Exp. Zool., 1.957; 134:103-125.

PORTE A., BRINI A. y STOECKEL M.E.:

Early stages of the development of the vitreous body in the chick embryo.

En: "The structure of the eye. II. Symposium". Ed: Rohen J.W., Schattaver-Verlag, Stuttgt., 1.965a:515-519.

PORTE A., STOECKEL M.E. y BRINI, A.:

Formation de la chambre antérieure chez l'embryon de poulet. Etude au microscope électronique.

C.R. Soc. Biol., 1.965b.

POULIQUEN, Y.:

Fibrillogenese sous-épithéliale au cours du développement de la cornée de l'embryon de poulet.

Arch. Ophthalmol. Paris, 1.965; 25:241-256.

POULIQUEN, Y., FAURE J.P., BISSON J. y OFFRET G.:

La zona fibrillaire acellulaire sous-épithéliale de la cornée de l'embryon de poulet. Ses rapports avec la formation de la membrane basale de l'épithélium et de la membrane de Bowman.

Arch. Ophthalmol. Paris, 1.966; 26:59-68.

PUCHADES ORTS A. y JIMENEZ COLLADO J.:

Homoinjerto de vesícula óptica en embriones de ave.

Comunicación IX Soc. Anat. Esp. y Luso-Hisp-Amer. Oporto, 1.973.

PUERTA FONOLLA J., RIAÑO GRANERO M. y ALFONSO SANCHEZ J.:

Heterografts of optic vesicle in chick embryos.

Trabajos del Instituto Cajal. Madrid, 1984; LXXV sup1.:93

RABL C.:

Ober den Bau und die Entwicklung der linse, T 3. Die linse der Saugetiere.

Z. Wiss. Zool., 1.889; 65:257-267.

RABAEY M.:

Exp. Eye Res., 1.962; 1:310-316.

Citado por GENIS GALVEZ y cols. en "La importancia biológica del cristalino". 1.968.

RAMON Y CAJAL S.
Morfología y conexiones de los elementos de las retinas de las aves.
Rev. Trim. Histol. Norm. Patol., 1.888; 2:1-10.

RAMON Y CAJAL S.
Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés.
II Maloine, Paris 1.911.

RAVIOLA E. y RAVIOLA G.:
A light and electron microscopy study of the pecten of the pigeon eye.
Amer. J. Anat., 1.967; 120:427-462.

REDSLOB E.:
Le développement de la cornée.
Arch. Anat. Histol. Embryol., 1.935; 19:135-230.

REINBOLD R.:
Régulation de l'oeil et régénération du cristallin chez l'embryon de poulet opéré en culture *in vitro*.
Arch. Anat. Micr. Morphol. Exp., 1.958; 47:341-357.

REINBOLD R.:
Role du tapetum dans la différentiation de l'esclerotique chez l'embryon de poulet.
J. Embryol. Exp. Morphol., 1.968; 19:43-47.

REVEL J.P. y HAY E.D.:
Fine structure of the developing chick cornea.
Anat. Rec., 1.965; 151:492.

REVERBERI G.:
Risultati di esperimenti di asportazione parziale e totale della vescicola ottica nell'embrione di pollo.
Boll. Ist. Zool. Univ. Roma, 1.929; 7:1-51

REYER R.W.:
An experimental study of lens regeneration in *Triturus viridescens*. II. Lens development from the iris in the absense of the embryonic lens.
J. Exp. Zool., 1.950; 113:317-353.

REYER R.W.:
Regeneration in the amphibian eye.
En: "Regeneration". Ed: Rumick. New York. Ronald press, 1.962:211-265.

REYER R.W.:

Stimulation and inhibition of the growth and differentiation of embryonic and regenerating lenses.

En: "The structure of the eye. II Symposium". Ed: Rohen J.W., Schattaver-Verlag, Stuttgart., 1.965:495-513.

REYER R.W., WOOLFITT R.A. y WITHERSTY L.T.:

Stimulation of lens regeneration from the newt dorsal iris when implanted into the blastema of regenerating limb.

Dev. Biol., 1.973; 32:258-281.

RIANO GRANERO M., ALFONSO SANCHEZ J.

Heteroinjertos de vesícula óptica en embriones de ave: Resultados preliminares.

Comunicación en cartel, presentada en el XX Congreso Nacional de la Sociedad Española de Oftalmología. Pamplona, 1.986.

ROGERS K.T.:

Early development of the optic nerve in the chick.

Anat. Rec., 1.957; 127:97-107.

ROMANOFF A.L.:

The eye.

En: The avian embryo. New York: The McMillan Company, 1.960:381-418.

ROUX W.M.:

Ueber das Künstliche Hervorbringen halber Embryonen durch Zerstörung einer der beiden ersten furchungskugeln.

U.S.W. Virchow's Arch., 1.888; 116.

RYCHTER Z.:

The development of the size ratio of the left and right eye in chick embryos.

Morph., 1.963; 4:317-326.

RYCHTER Z. y LEMEZ L.:

The vascular system of the chick embryo. XIII. The influence of some experimental intervention on the development of the size-ratio of the left and right eye tiel the 8th day of incubation.

Morph., 1.963; 4:328-336.

SCHOOK P.:

Morphogenetic movements during the early development of the chick eye. A light microscopic and spatial reconstructive study.

Acta Morphol. Neerl. Scand., 1.980a; 18:1-30.

SCHOOK P.:

Morphogenetic movements during the early development of the chick eye. An ultrastructural and spatial reconstructive study. B. Invagination of the optic vesicle and fusion of its walls.

Acta Morphol. Neerl. Scand., 1.980b; 18:159-180.

SCHOOK P.:

Morphogenetic movements during the early development of the chick eye. An ultrastructural and spatial reconstructive study. C. Obliteration of the lens stalk lumen and separation of the lens vesicle from the surface ectoderm.

Acta Morphol. Neerl. Scand., 1.980c; 18:195-211.

SEEFELDER T. y WOLFRUM M.:

Zur entwicklung der harnhaut des menschen.

Dr. F. Augenh. 1.926:156-162.

SHEFFIELD J.B. y FISCHMAN D.A.:

Intercellular junction in the developing neural retina of the chick.

Z. Zellforsch., 1.970; 104:405-418.

SILVER J. y HUGHES A.F.W.:

The role of cell death during morphogenesis of the mammalian eye.

J. Morph., 1.973, 140:159-170.

SILVER P.H.:

Orientation of the choroid fissure in bird embryos.

J. Physiol., 1.966; 184:1.

SILVER P.H.:

Experiments concerning the initiation of the choroid in *Gallus domesticus*.

J. Anat., 1.977; 123:219-225.

SLONAKER J.R.:

A physiological study of the anatomy of the eye and its accessory parts in the English sparrow.

J. Morphol., 1.918; 31:351-459.

SLONAKER J.R.:

The development of the eye and its accessory parts in the English sparrow (*Passer domesticus*).

J. Morphol., 1.921; 35:263-357.

SMELSER G.K.:

The structure of the eye.

Academic Press. New York and London, 1.961.

SPEMANN H.:

Ueber korrelationen in der Entwicklung de Auges.

Verh. Anat. Ges. Jena Verslg. Bonn, 1.901; 15:61-79.

STEIN K.F.:

Early embryonic differentiation of the chick hipophysis as shown in corioallantoic grafts.

Anat. Rec., 1.933; 43:221-237.

STONE L.S.:

Neural retina degenetation followed by regenetation from surviving retinal pigment cells in grafed adult salamander eyes.

Anat. Rec., 1.950a; 106:89-110.

STONE L.S.:

The role of retinal pigment cells in regenerating neural *retinae* of adult salamander eyes.

J. Exp. Zool., 1.950b; 113:9-32.

STONE L.S.:

Normal and reversed vision in transplanted eyes.

Arch. Ophthal., 1.953; 49:28-35.

STONE L.S.:

An investigation recording all salamanders which can and cannot regenerate a lens from the dorsal iris.

J. Exp. Zool., 1.967; 164:89-104.

STROEVA O.G.:

Experimental study of the conditions determining the development of the pigmented epithelium and the retina in mammals.

Dokl. Akad. Nawk. SSSR, 1.956; 109:657-660.

STROEVA O.G.:

The role of the lens epithelium in the induction of iris and ciliary body tissue.

Dokl. Akad. Nawk. SSSR, 1.962; 151:464-467.

STUDNICKA F.K.:

Das mesenchym und das mesostroma dertroschlarven und dessen produkte.

Anat. Anz., 1.911; 40:33-62.

STURKIE P.D.:
Avian physiology.
Cornell University press. Ithaca, New York, 1.965.

SZILY von:
Arch. Ophthalmol., 1.922; 107:317-431.
Citado por ROMANOFF, en: "The avian embryo". 1.960.

TELLO J.F.:
Les différenciations neuronales dans l'embryon de poulet,
pendant les premiers jours de l'incubation.
Travaux du Lab. Recher. Biol. l'Université Madrid, 1.923;
21:1-93.

TOSCHI A.:
La quaglia.
Ric. Zool. Appl. Caccia, 1.959; III:(suppl).

TRELSTAD R.L. y COULOMBRE A.J.:
Morphogenesis of the collagenous stroma in the chick
cornea.
J. Cell. Biol., 1.971; 50:840-858.

TWITTY V.C.:
Influence of the eye on the growth of its associated
structures, studied by means of heteroplastic
transplantations.
J. Exp. Zool., 1.932; 61:333-374.

VAN DETH J.H.M.G.:
Induction et régénération du cristallin chez l'embryon de
la poule.
Acta Needr. Morphol., 1.940: 3:151.

VAN DOORENMAALEN W.J.:
Acta. Morph. Neerl. Scand., 1958; 2:1-12.
Citado por ZWAAN e IKEDA en: "Interkinetik nuclear
migration during the early stages of lens formation in
the chicken embryo". 1.969.

WALLS G.L.:
The vertebrate eye and its adaptative radiation.
Cranbrook Inst. Sci. (Bloomfield, Hills). Michigan, 1.942.

WADDINGTON C.H. y COHEN A.:
Experiments on the development of the head of the chick
embryo.
J. Exp. Biol., 1.936; 13:219-236.

WATERMAN A.J. y EVANS H.J.:
Morphogenesis of the avian ear rudiment in
chorio-allantoic grafts.
J. Exp. Zool., 1.940; 84:53-71.

WATZKA M.:
Ober die Entwicklung der Cornea und der linsenkapsel des
Hühnchens.
Z. Anat. Entwgesch. 1.935; 104:424-439.

WEISS P. y AMPRINO R.:
The effect of mechanical stress on the differentiation of
scleral cartilage *in vitro* and in the embryo.
Growth, 1.940; 4:245-258.

WEISS P. y JACKSON S.F.:
Fine structural changes associated with lens determination
in the avian embryo.
Dev. Biol., 1.961; 3:532-554.

WENGER B.S.:
Determination of structural patterns in the spinal cord of
the chick embryo studied by transplantation between
brachial and adjacent levels.
J. Exp. Zool., 1.951; 116:123-163.

WESTON J.A.:
A radioautographic analysis of the migration and
localization of trunk neural crest cells in the chick.
Dev. Biol., 1.963; 6:279-310.

WESTON J.A. y BUTLER S.L.:
Temporal factors affecting localization of neural crest
cells in the chicken embryo.
Dev. Biol., 1.966; 14:246-266.

WEYSSE A.W. y BURGESS W.S.:
Histogenesis of the retina.
Amer. Natur., 1.906; 40:611-637.

WOOD C.A.:
The fundus oculi of birds, especially as viewed by the
ophthalmoscope (a study in comparative anatomy and
physiology).
The Lakeside press. Chicago, 1.917.

YAMADA T.; REESE D.H. y McDEVITT D.S.:
Transformation of iris into lens *in vitro* and its
dependency on neural retina.
Differentiation, 1.973; 1:65-82.

ZACCHEI A.M.:

Lo sviluppo embrionale della quaglia giapponese. (*Coturnix coturnix japonica* T. e S.).

Arch. Italian Anat. Embriol., 1.961; vol. LXVI, 1:36-62.

ZWAAN J.:

Immunochemical analysis of the eye lens during development.

Thesis, University of Amsterdam, 1.963.

ZWAAN J. e IKEDA A.:

An immunochemical study on the beta-crystallins of the chicken lens: Ontogenetic and phylogenetic aspects.

En: "The structure of the eye. II Symposium". Ed: Rohen J.W., Schattaner-Verday Stuttgt., 1.965:419-429.

ZWAAN J. e IKEDA A.:

Interkinetik nuclear migration during the early stages of lens formation in the chicken embryo.

J. Exp. Morphol., 1.969; 21:71-83.